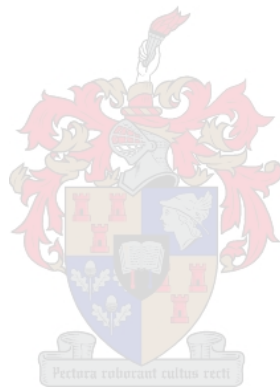


VINNIGE IDENTIFIKASIE VAN BOTANIESE- EN GEOGRAFIESE OORSPRONG VAN SUID- AFRIKAANSE HEUNING

deur

Marguerite Antoinette Vermeulen



*Tesis ingelewer ter gedeeltelik voldoening aan die vereistes vir die graad Magister in
Voedselwetenskap in die Fakulteit AgriWetenskappe aan die Universiteit Stellenbosch*

Studieleier: Professor Marena Manley

Medestudieleier: Doktor Paul Williams

Medestudieleier: Mike Allsopp

Desember 2020

VERKLARING

Deur hierdie tesis elektronies in te lewer, verklaar ek dat die geheel van die werk hierin vervat, my eie, oorspronklike werk is, dat ek die alleenouteur daarvan is (behalwe in die mate uitdruklik anders aangedui), dat reproduksie en publikasie daarvan deur die Universiteit Stellenbosch nie derdepartyregte sal skend nie en dat ek dit nie vantevore, in die geheel of gedeeltelik, ter verkryging van enige kwalifikasie aangebied het nie.

Marguerite Antoinette Vermeulen

Desember 2020

Kopiereg © 2020 Universiteit Stellenbosch

Alle regte voorbehou

Hierdie tesis word gewy aan al die vrouens in die wêreld wat kan en wil, maar mag nie weens
wette teen vrouens

BEDANKINGS

Ek wil graag my studieleiers Prof. Marena Manley, Dr. Paul Williams en Mike Allsopp bedank vir julle aanhoudende ondersteuning tydens die afloop van my navorsing. Baie dankie Prof. Manley vir al die ure wat Prof. aan my werk spandeer het om dit vele kere te lees en my te help met my data analisering wanneer ek gesukkel het. Dankie aan Dr. Williams dat Dr. my raad gegee het wanneer ek nie seker was of ek nog op die regte pad is nie. Dankie aan Mike vir al jou ure wat jy spandeer het om my rond te ry na ver geleë plekke om my monsters in te samel, vir die moeite wat ingegaan het om vir byeboere te vra om monsters te skenk, vir die vrygewigheid om te help waar jy kan en laastens vir die emosionele ondersteuning tydens die afloop van my studie. Sonder julle sou ek nie hierdie studie suksesvol kon aflê nie.

Federico Marini wil ek ook bedank vir al sy tyd en ure wat hy ingesit het om my te help tydens sy besige skedule. I really appreciate you for your patience and kindness while explaining the difficult mathematics and coding that comes so easily to you. There is no way I could have done this without you. Thank you for helping me without hesitation even when you were on an airplane busy travelling the world.

Die volgende mense en besighede word bedank vir die bydrae tot my monstersstel, sonder julle sou ek nie monsters gehad het om my studie te voltooi nie: Nanike Esterhuizen, Justin Thacker, Chantal Lenferna, Herman Venter, Henriette van Zyl, Inge Lotter, Nelson, Nico Langenhoven Hurters Honey, Qbee Honey Farmers, Bee Things, Graham Hill, Overberg Honey Co., Peel's Honey, Kyloe, Inkwazi, Simply Bee en Mac's Honey.

Al die mense by die Departement van Voedselwetenskap wil ek ook hartlik dankie sê. Julle het 'n vriendelike werksomgewing geskep. Dankie vir my mede nagraadse studente wat na my oefeninge van my voorleggings geluister het en kommentaar gelewer het sodat ek dit kan verbeter. Dankie aan Kate wat altyd die ekstra myl gegaan het om seker te maak ek lewer my beste werk. Dankie aan Alexandra Rust wat elke stap van my studie saam my gestaan het met ondersteuning en op al die avonture saam was om my monsters uit die korwe te gaan haal. You were great.

Aan Die Akademie vir Wetenskap en Kuns wil ek dankie se vir die finansiële ondersteuning wat my deur my studies gebring het.

Laaste wil ek my ouers La Verne en Jean Pierre bedank, Pierre my broer en vele van my vriende wat my ondersteun het. Spesifiek dankie Bianca, Inge, Mia, Marcelle, Lalagen en Imche vir julle motivering om nooit op te gee nie. En Metallica se musiek wat my deur al die ure se skryf gebring het.

UITTREKSEL

Die botaniese- en geografiese oorsprong het die grootste invloed op die eienskappe van heuning, en so beïnvloed dit die prys van die heuning ook. Daarom is dit belangrik om die oorsprong van die heuning te bepaal. Palinologiese analise is die tradisionele metode om die botaniese- en geografiese oorsprong van heuning te bepaal, maar dit is tydrowend en 'n deskundige word benodig. Hierdie studie het beoog om 'n vinnige en maklike metode te ontwikkel om die botaniese- en geografiese oorsprong van Suid-Afrikaanse heuning te bepaal.

NIR-spektroskopie is tesame met partiële kleinste kwadrate diskriminantanalise (PLS-DA) gebruik vir klassifikasie. Twee verskillende instrumente is vir die skandering van heuning gebruik, naamlik die tafelinstrument en die handapparaat. Die tafelinstrument met transfleksie en die handapparaat met diffusierefleksie. Die handapparaat was met twee verskillende voorstellingsmetodes gebruik, 'n Teflonkoppie en 'n glasflessie. Die gemiddelde spektra van die tafelinstrument het vier hoof absorpsiebande by 1460 (suiker en vog verwant), 1940 (vog verwant), 2090 en 2280 nm (beide suiker verwant) aangedui terwyl die handapparaat slegs twee hoof absorpsiebande vir elke voorstellingsmetode by 995 (aromaties verwant) en 1200 nm (suiker verwant), en 1200 en 1450 nm (suiker en vog verwant) vir die Teflonkoppie en glasflessie respektiewelik gewys het. Die hoofkomponentanalise (PCA)-tellingstippings vir die botaniese klassifikasie het swak skeiding tussen die klasse [fynbos (Sandveld en Strandveld) en 'ander' (lusern, makadamia, rooibloekom, saligna, sitrus)] getoon getoon. Hierdie is as gevolg van die kompleksiteit van heuning. Vir die geografiese klassifikasie het die PCA-tellingstippings beter skeiding getoon veral vir die Hopefield- en Stanfordklasse. Die Stellenboschklas het ooreenkomstig met die ander twee klasse. Die rede vir hierdie was dat Stellenbosch se plantegroei 'n mengsel van meestal fynbos en *Eukaliptus* is, terwyl Hopefield meestal fynbos het en Stanford meestal *Eukaliptus* het.

Die handmodel (Teflonkoppie) het die beste klassifikasie botaniese klassifikasie getoon met 'n voorspellingsakkuraatheid van 79.63%. Hierdie akkuraatheid wys dat fynbos nie suksesvol van die 'ander' heuning onderskei kon word nie, maar wel die potensiaal het indien 'n groter monsterstel ingesamel kan word. Die geografiese klassifikasie het 'n algemene goeie voorspellingsakkuraatheid van 84.21% behaal met die handmodel (glasflessie). Hierdie vertoon dus asof daar tussen die geografiese oorsprong geklassifiseer kon word, maar deur terug te gaan na die PCA-tellingstippings kan daar gesien word dat die klassifikasie eerder op die botaniese oorsprong van die monsters lê wat dus 'n onderskeid tussen fynbos en *Eukaliptus* heuning is. Met hierdie bevinding wys dit dat daar wel tussen die botaniese oorsprong van Suid-Afrikaanse heuning onderskei kan word, maar 'n groter monsterstel word benodig.

ABSTRACT

The botanical and geographic origin has the greatest influence on the properties of honey, and so it affects the price of honey as well. Therefore, it is important to determine the origin of the honey. Mellisopalionology analysis is the traditional method of determining the botanical and geographical origins of honey, but it is time consuming and requires an expert. This study aimed to develop a quick and easy method to determine the botanical and geographical origin of South African honey.

NIR spectroscopy was used in conjunction with partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) for classification. Two different instruments were used for scanning honey, namely the benchtop instrument and the handheld instrument. The benchtop instrument in transfection and the handheld in diffusion reflection. The handheld instrument was used with two different presentation modes, a Teflon cup and a glass vial. The average spectra of the benchtop instrument indicated four main absorption bands at 1460 (sugar and moisture related), 1940 (moisture related), 2090 and 2280 nm (both sugar related) while the handheld instrument only indicated two main absorption bands for each presentation mode at 995 (aromatic related)) and 1200 nm (sugar related), and 1200 and 1450 nm (sugar and moisture related) for the Teflon cup and glass vial respectively. The main component analysis (PCA) score plots for the botanical classification showed poor separation between the classes [fynbos (Sandveld and Strandveld) and 'others' (lucerne, macadamia, red river gum, saligna, citrus)]. This is due to the complexity of honey. For the geographic classification, the PCA score plots showed better separation especially for the Hopefield and Stanford classes. The Stellenbosch class overlapped with the other two classes. The reason for this was that Stellenbosch's vegetation is a mixture of mostly fynbos and *Eucalyptus*, while Hopefield has mostly fynbos and Stanford mostly has *Eucalyptus*.

The hand model (Teflon cup) showed the best classification botanical classification with a prediction accuracy of 79.63%. This accuracy shows that fynbos could not be successfully distinguished from the 'other' honey, but does have the potential if a larger sample set can be collected. The geographical classification achieved an overall good predictive accuracy of 84.21% with the hand model (glass vial). This therefore appears to have been classified between the geographical origins, but by going back to the PCA score plots it can be seen that the classification is rather based on the botanical origin of the samples which is therefore a distinction between fynbos and *Eucalyptus* honey. With this finding, it shows that a distinction can be made between the botanical origin of South African honey, but a larger sample set is needed.

INHOUDSOPGAWE

VERKLARING	II
BEDANKINGS.....	IV
UITTREKSEL	V
ABSTRACT	VI
INHOUDSOPGAWE.....	VII
LYS VAN FIGURE	IX
LYS VAN TABELLE.....	XI
LYS VAN AFKORTINGS GEBRUIK.....	XII
WOORDELYS.....	XIV
HOOFSTUK 1 INLEIDING	1
VERWYSINGS.....	4
HOOFSTUK 2 LITERATUURSTUDIE.....	8
AGTERGROND	8
SAMESTELLING VAN HEUNING	9
HEUNING IN SUID-AFRIKA	10
<i>Bestuiwing-ekosisteedienste in Suid-Afrikaanse landboustelsels.....</i>	<i>11</i>
STUIFMEEL- EN CHEMIESE ANALISE	14
BEGINSELS EN TEORETIESE AGTERGROND VAN NIR-SPEKTROSKOPIE.....	15
<i>Geskiedenis en grondbeginsels van NIR-spektroskopie</i>	<i>15</i>
<i>Instrumentasie.....</i>	<i>16</i>
Aanbieding van monster	16
Mobiele handmodel teenoor tafelmodel	17
<i>Chemometrie</i>	<i>17</i>
Voorafbehandelings tegnieke.....	18
Verkennde data-analise.....	19
Meerveranderlike data-analises.....	20
TOEPASSING VAN NIR-SPEKTROSKOPIE IN HEUNING	21
<i>Botanies</i>	<i>21</i>
<i>Geografies</i>	<i>27</i>
<i>Vervalsing</i>	<i>28</i>
<i>Fisies-chemiese analise en bepaling van die di- en tri-sakkariede</i>	<i>29</i>
GEVOLGTREKKING.....	29
VERWYSINGS.....	30
HOOFSTUK 3 MATERIALE EN METODES	37
<i>Monsters.....</i>	<i>37</i>
Botanies	37
Geografies	37

<i>Totale oplosbare vastestowwe-aanpassing</i>	38
<i>NIR-instrumente</i>	39
<i>Spektrale verkryging</i>	39
<i>Spektrale data analise</i>	41
<i>Verkennde data-analise</i>	42
Hoofkomponentanalise (PCA)	42
<i>Meerveranderlike data-analise</i>	43
Modelontwikkeling met PLS-DA	43
<i>Uitskieter verwydering</i>	44
VERWYSINGS.....	44
HOOFSTUK 4 RESULTATE EN BESPREKING	46
<i>Spektrale analise</i>	46
<i>Botanies</i>	48
Verkennde data-analise.....	48
Hoofkomponentanalise (PCA)	48
Meerveranderlike data-analise.....	51
Parsiële kleinste kwadrate-diskriminantanalise (PLS-DA)	51
Uitskieterverwydering	57
<i>Geografies</i>	60
Verkennde data-analise.....	60
Hoofkomponentanalise (PCA)	60
Meerveranderlike data-analise.....	63
Parsiële kleinste kwadrate-diskriminantanalise (PLS-DA).....	63
Uitskieterverwydering	69
GEVOLGTREKKING.....	69
VERWYSINGS.....	69
HOOFSTUK 5 ALGEMENE BESPREKING EN GEVOLGTREKKING	72
VERWYSINGS.....	76
ADDENDUM A	79
ADDISIONELE INLIGTING MET BETREKKING TOT HOOFSTUK 3	79
ADDENDUM B	80
ADDISIONELE INLIGTING MET BETREKKING TOT HOOFSTUK 4 (BOTANIESE KLASSIFIKASIE)	80
ADDENDUM C	91
ADDISIONELE INLIGTING MET BETREKKING TOT HOOFSTUK 4 (GEOGRAFIESE KLASSIFIKASIE)	91

LYS VAN FIGURE

Figuur 2.1 (a) MicroNIR OnSite-W (mobiele handmodel NIR spektrometer) (Viavi Solutions Inc, Milpitas, USA) en (b) BÜCHI NIRFlex N-500 (Tafelmodel FT-NIR spektrometer) (NIRSolutions™, Flawil, Switzerland).	17
Figuur 2.2 Knelpuntstipping van $RMSE_{CV}$ (blou) en RMSEC (rooi) teenoor latente veranderlike (LV). Stippellyn (swart) dui kleinste $RMSE_{CV}$ aan met die minste hoeveelheid LV.	19
Figuur 4.1 Ongeprosesseerde gemiddelde absorpsie spektra vir heuningmonsters soos gemeet met tafelinstrument.	47
Figuur 4.2 Ongeprosesseerde gemiddelde spektra vir heuningmonsters soos gemeet met handapparaat (Teflonkoppie) (blou) en (glasflessie) (oranje).	47
Figuur 4.3 PCA van fynbosklas (blou) teenoor 'ander' klas (rooi) vir die tafelinstrument. Minimale skeiding is waargeneem. Tellings word gegee as (a) PCA-tellingstipping van PC2 (22%) vs. PC3 (15%). (b) PCA-beladingslynstipping en (c) korrelasiebeladingstipping vir PC2 met interpreteerbare bande by 1930, 1970, 2224 en 2390 nm; en (d) PCA-beladingslynstipping en (e) korrelasiebeladingstipping vir PC3 met interpreteerbare bande by 1980 en 2480 nm.	48
Figuur 4.4 PCA van fynbosklas (blou) teenoor 'ander' klas (rooi) vir die handapparaat (Teflonkoppie). Minimale tot geen skeiding is waargeneem. Tellings word gegee as (a) PCA-tellingstipping van PC3 (17%) vs. PC4 (9%). (b) PCA-beladingslynstipping en (c) korrelasiebeladingstipping vir PC3 met interpreteerbare bande by 965, 1150, 1255 en 1323 nm; en (d) PCA-beladingslynstipping en (e) korrelasiebeladingstipping vir PC4 met 'n interpreteerbare band by 1546 nm.	49
Figuur 4.5 PCA van fynbosklas (blou) teenoor 'ander' klas (rooi) vir handapparaat (glasflessie). Minimale tot geen skeiding is waargeneem. Tellings word gegee as (a) PCA-tellingstipping van PC3 (9%) vs. PC4 (5%). (b) PCA-beladingslynstipping en (c) korrelasiebeladingstipping vir PC3 met interpreteerbare bande by 980, 1270 en 1410 nm; en (d) PCA-beladingslynstipping en (e) korrelasiebeladingstipping vir PC4 met interpreteerbare bande by 1340, 1500 en 1630 nm.	50
Figuur 4.6 Invloedstipping van twee botaniese klasse voorafbehandel met EPO en DT van die tafelinstrument (dataskieving met KS).	57
Figuur 4.7 Invloedstipping van twee botaniese klasse voorafbehandel met EPO en SNV van die handapparaat (Teflonkoppie) (dataskieving met DUPLEX).	57
Figuur 4.8 Invloedstipping van twee botaniese klasse voorafbehandel met EPO en SG van die handapparaat (glasflessie) (dataskieving met KS).	58
Figuur 4.9 PCA van Stellenboschklas (blou), Hopefieldklas (rooi) en Stanfordklas (groen) van die tafelinstrument. Beide PC1 en PC2 was nodig, maar redelike groot skeiding tussen Hopefield en Stanford. Tellings word gegee as (a) PCA-tellingstipping van PC1 (41%) vs. PC2 (29%). (b) PCA-beladingslynstipping en (c) korrelasiebeladingstipping vir PC1 met interpreteerbare bande by 1058, 1391, 1879, 2124, 2383 en 2492 nm; en (d) PCA-beladingslynstipping en (e)	

korrelasiebeladingstipping vir PC2 met interpreteerbare bande by 1299, 1435, 1663, 1931, 1971 en 2262 nm..... 60

Figuur 4.10 PCA van Stellenboschklas (blou), Hopefieldklas (rooi) en Stanfordklas (groen) van die handapparaat (Teflonkoppie). Duidelike skeiding tussen Hopefield en Stanford in PC1. Tellings word gegee as (a) PCA-tellingstipping van PC1 (54%) vs. PC2 (15%). (b) PCA-beladingslynstipping en (c) korrelasiebeladingstipping vir PC1 met interpreteerbare bande by 939, 1093, 1267 en 1347 nm. 61

Figuur 4.11 PCA van Stellenboschklas (blou), Hopefieldklas (rooi) en Stanfordklas (groen) van die handapparaat (glasflessie). Beide PC1 en PC2 was nodig, maar redelike groot skeiding tussen Hopefield en Stanford. Tellings word gegee as (a) PCA-tellingstipping van PC1 (65%) vs. PC2 (13%). (b) PCA-beladingslynstipping en (c) korrelasiebeladingstipping vir PC1 met interpreteerbare bande by 920, 1100, 1416, 1465 en 1663 nm; en (d) PCA-beladingslynstipping en (e) korrelasiebeladingstipping vir PC2 met interpreteerbare bande by 970, 1013, 1279 en 1391 nm.. 62

LYS VAN TABELLE

Tabel 2.1 Gemiddelde hoeveelhede van wateroplosbare vitamene teenwoordig in heuning.....	10
Tabel 2.2 Getoetste minerale wat in heuning voorkom (aangepaste tabel van Morgano <i>et al.</i> , 2012).	10
Tabel 2.3 Plantspesies wat meer as 40% van die stuifmeel en nektar aan heuningbykolonies in Suid-Afrika voorsien (aangepaste tabel van Hutton-Squire, 2014).	11
Tabel 2.4 Plantspesies wat meer as 10% van die voere vir heuningbykolonies in die Wes-Kaap uitmaak (aangepaste tabel van Hutton-Squire <i>et al.</i> , 2014).	13
Tabel 2.5 Gebruike van NIR-spektroskopie op heuning.	23
Tabel 3.1 Geografiese oorsprong van heuningmonsters met tyd van insameling, tipes plantegroei in die area en aantal monsters van elk.	38
Tabel 3.2 Veroudering (maande) tussen skanderings van enkelblom heuningmonsters (kode).	41
Tabel 4.1 Oorsig van die PLS-DA-modelle se kalibrasie- en voorspellingsakkuraatheid resultate om die algehele vertoning van verskillende voorafbehandelings tegnieke van die tafelinstrument te assesser.	54
Tabel 4.2 Oorsig van die PLS-DA-modelle se kalibrasie- en voorspellingsakkuraatheid resultate om die algehele vertoning van verskillende voorafbehandelings tegnieke van die handapparaat (Teflonkoppie) te assesser.	55
Tabel 4.3 Oorsig van die PLS-DA-modelle se kalibrasie- en voorspellingsakkuraatheid resultate om die algehele vertoning van verskillende voorafbehandelings tegnieke van die handapparaat (glasflessie) te assesser.	56
Tabel 4.4 Die vertoning van die PLS-DA modelle van die twee botaniese klasse van die drie verskillende voorstellingsmetodes met uitskieters verwyder en golflengtes geselekteer.	59
Tabel 4.5 Oorsig van die PLS-DA-modelle se kalibrasie- en voorspellingsakkuraatheid resultate om die algehele vertoning van verskillende voorafbehandelings tegnieke van die handapparaat met die tafelinstrument te assesser.	66
Tabel 4.6 Oorsig van die PLS-DA-modelle se kalibrasie- en voorspellingsakkuraatheid resultate om die algehele vertoning van verskillende voorafbehandelings tegnieke van die handapparaat (Teflonkoppie) te assesser.	67
Tabel 4.7 Oorsig van die PLS-DA-modelle se kalibrasie- en voorspellingsakkuraatheid resultate om die algehele vertoning van verskillende voorafbehandelings tegnieke van die handapparaat (glasflessie) te assesser.	68

LYS VAN AFKORTINGS GEBRUIK

B	°Brix
BGA	Beskermd Geografiese Aanduiding
BOB	Beskermd Oorsprongbeskrywing
BP-ANN	Terug-propagasië-kunsmatige neurale netwerk
C	Kalibrasie
CA	Groeptelings
CARS-PLS-LDA	Kompeterende aanpasbare oorgewegde steekproefversameling-parsiële kleinste kwadrate-lineêre diskriminantanalise
CC	Korrekte klassifikasie
CV	Kruisbevestiging
DT	Tendensverwydering
EPO	Eksterne parameter-ortogonalisering
EU	Europese Unie
FN	Vals negatiewe
FP	Vals positiewe
FTNIR	Fourier-transformasie naby-infrarooi
GC	Gaschromatografie
GC-MS	Gaschromatografie-massaspektrometrie
HFMS	Hoëfruktosemieliestroop
HPLC	Hoëprestasië-vloeistofchromatografie
ICP-OES	Induktief gekoppelde plasma-optiese emissiespektrometrie
IR	Infrarooi
IRMS	Isotoop-rantsoenmassaspektroskopie
KNN	K-naaste bure
KS	Kennard-Stone
LDA	Lineêre diskriminantanalise
LS-SVM	Minste vierkante-ondersteun vektormasjien
LV	Latente veranderlikes
M	Massa
MC	Gemiddeldgesentreerd

MD-DA	Mahalanobis afstand-diskriminantanalise
MLF-NN	Meervoudige lae vorentoe-voerende neurale netwerk
MPLS	Aangepaste parsiële kleinste kwadrateregressie
MSC	Veelvuldige verspreidingskorreksie
N	Aantal monsters
NIR	Naby-infrarooi
P	Voorspelling
PC	Hoofkomponente
PCA	Hoofkomponentanalise
PCR	Hoofkomponentregressie
PLS	Parsiële kleinste kwadrate
PLS-DA	Parsiële kleinste kwadratediskriminantanalise
PLS-LDA	Parsiële kleinste kwadrate-lineêre diskriminantanalise
RMSE	Wortel gemiddelde vierkants fout
Sen	Sensitiwiteit
SEP	Standaardfout van voorspelling
SG	Savitzky-Golay
SIMCA	Sagte onafhanklike modellering van klas-analogie
SNV	Standaard-normale veranderlike
Spes	Spesifisiteit
TN	Ware negatiewe
TP	Ware positiewe
TSG	Tradisionele Spesialiteit Gewaarborg
TSS	Totale oplosbare vaste stowwe
USV	Uitskieterverwydering

WOORDELYS

Afrikaans	Engels
Aangepaste parsieë kleinste kwadrateregressie (MPLS)	Modified partial least squares (MPLS)
Afgeleides	Derivatives
Basislynregstelling	Baseline correction
Begeleide	Supervised
Beladings	Loadings
Beskernde Geografiese Aanduiding (BGA)	Protected Geographical Indication (PGI)
Beskernde Oorsprongbeskrywing (BOB)	Protected Designation of Origin (PDO)
Bron van bestraling	Light source
Chemometrie	Chemometrics
Detektor	Detector
Diffusierefleksie	Diffuse reflection
Eksterne parameter-ortagonalisering (EPO)	External Parameter Orthogonalisation (EPO)
Elementêre ontleder	Elemental analyser
Enkelblom	Monofloral
Euklidiese afstand	Euclidean distance
Europese Unie (EU)	European Union (EU)
Gemiddeldgesentreerd (MC)	Mean-centred (MC)
Gladdingspunte	Smoothing points
Gladstryking	Smoothing
Glukonsuur	Gluconic acid
Golflengteselevator	Wavelength selector
Groeptontledings (CA)	Cluster analysis (CA)
Grondenergiestoestand	Ground energy state
Hoëfruktosemieliestroop (HFMS)	High fructose corn syrup (HFCS)
Hoofkomponentanalise (PCA)	Principal component analysis (PCA)
Hoofkomponentregressie (PCR)	Principal component regression (PCR)
Induktief gekoppelde plasma-optiese emissiespektrometrie (ICP-OES)	Inductively coupled plasma-optic emission spectroscopy (ICP-OES)

Invloede	Leverages
Isotoop-rantsoenmassaspektroskopie (IRMS)	Isotope ratio mass spectroscopy (IRMS)
Kalibrasie (C)	Calibration (C)
Klasvoorspelling mees waarskynlik	Class prediction most probable
K-naaste bure (KNN)	K-nearest neighbour
Kompeterende aanpasbare oorgeweegde steekproefversameling-parsiële kleinste kwadrate-lineêre diskriminantanalise (CARS-PLS-LDA)	Competitive adaptive reweighted sampling- partial least squares-linear discriminant analysis (CARS-PLS-LDA)
Korrelasiebeladings	Correlation loadings
Kruisbevestiging (CV)	Cross-Validation (CV)
Kwalitatiewe	Qualitative
Latente veranderlikes (LV)	Latent variables (LV)
Lineêre diskriminantanalise (LDA)	Linear discriminant analysis (LDA)
Mahalanobis afstand-diskriminantanalise (MD-DA)	Mahalanobis distance-discriminant analysis (MD-DA)
Meerveranderlike statistiese regressie tegnieke	Multivariate statistical regression techniques
Meervoudige lae vorentoe-voerende neurale netwerk (MLF-NN)	Multilayered feedforward-neural network (MLF-NN)
Mid-infrarooi	Mid-infrared
Minste vierkante-ondersteun vektormasjien (LS-SVM)	Least squares-support vector machine (LS-SVM)
Monster	Sample
Multiblom	Multifloral
Multikollineariteit	Multicollinearity
Naby-infrarooi	Near-infrared
Nie-ekstraheerbaar	Non-extractable
Niegeteikende ontleding	Non-targeted analysis
Onbegeleide	Unsupervised
Oorpas	Over-fit
Oortoon	Overtone
Palinologiese	Mellisopalynology
Parsiële kleinste kwadrate (PLS)	Partial least squares (PLS)

Parsiële kleinste kwadratediskriminantanalise (PLS-DA)	Partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA)
Tellings	Scores
Reaksieveranderlike	Response variable
Refleksie	Reflectance
Sagte onafhanklike modellering van klas-analogie (SIMCA)	Soft independent modeling of class analogy (SIMCA)
Knelpuntstipping	Scree plot
Standaard-normale veranderlike (SNV)	Standard normal variate (SNV)
Standaardfout van voorspelling (SEP)	Standard error of prediction (SEP)
Stipping	Plot
Strek	Stretch
Tendensverwydering (DT)	De-trend (DT)
Terug-propagasie-kunsmatige neurale netwerk (BP-ANN)	Back propagation-artificial neural network (BP-ANN)
Totale oplosbare vaste stowwe (TSS)	Total soluble solids (TSS)
Tradisionele Spesialiteit Gewaarborg (TSG)	Traditional Specialty Guaranteed (TSG)
Transfleksie	Transflectance
Transmissie	Transmission
Veelterm	Polynomial
Veelvuldige-verspreidingskorreksie (MSC)	Multiple scatter correction (MSC)
Verhoogde energietoestand	Excited energy state
Ver-infrarooi	Far-infrared
Verkennde data-analise	Exploratory data analysis
Vervalsing	Adulteration
Vloeistofchromatografie	Liquid chromatography
Voorafbehandelings tegnieke	Pre-processing techniques
Voorspelling (P)	Prediction (P)

HOOFSTUK 1

INLEIDING

Vloeibare goud, heuning, word al vir duisende jare nie net as kos verbruik nie, maar ook vir die gesondheids-/medisinale voordele wat dit bied (White, 1976a; Francis & Gontier, 1982a; Divched, 2007). Heuning word sedert die steentydperk deur mense geëet, en die eerste waarneming van waar mense heuning uit 'n korf haal, is in 'n kunswerk in Spanje (Allsop & Miller, 1996). Die kunswerk wat 10 000 jaar oud is, beeld mense uit wat besig is om heuning uit 'n wilde nes te haal. Vandag word heuning meer in ontwikkelde lande verbruik omdat dit daar bekostigbaar is teenoor die onbekostigbaarheid in ontwikkelende lande (Bogdanov *et al.*, 2008).

Koolhidrate domineer die samestelling van heuning terwyl die ander dele uit komplekse suikers en spore van polisakkariede bestaan (White, 1976b). Suiker is wel 'n natuurlike preserveermiddel, maar water het 'n groot invloed op die rakleefyd van heuning. Indien die voginhoud te hoog is, kan dit chemiese reaksies veroorsaak wat fermentasie insluit en die heuning laat bederf (Prica *et al.*, 2014). Onder normale omstandighede verwyder die bye van die vog om hierdie vorm van bederf te voorkom. Een van die belangrikste metodes van preserving is die ensiematiese proses wat binne in die by se maag plaasvind tydens die maak van heuning. Nektar ingesamel deur die by reageer in die by met die ensiem, glukose-oksidasie, wat dit afbreek na glukonsuur en waterstofperoksied. Die waterstofperoksied is die produk wat bederf voorkom. Daar is 'n wanpersepsie dat kristallisasie van heuning 'n aanduiding van bederf is. Dit is slegs 'n natuurlike proses wat plaasvind as gevolg van die oorversadiging van die glukose monohidraat en beteken nie dat dit bederf is nie (White, 1976a).

Die kristallisasieproses van die verskillende heuningtipes verskil, aangesien daar verskeie faktore is wat dit kan beïnvloed. Die verhouding van suikers in die heuning sowel as die behandelingsmetode het 'n invloed op die tipe kristalle en tempo van kristalvorming (El Sohaimy *et al.*, 2015). Sommige kristalle is fyn en sag wat egalig in die heuning vorm en ander kan groot growwe kristalle vorm wat onegalig deur die heuning versprei is. Ander faktore sluit in of die basis van die heuningkoek oud is en deur die bye hergebruik word asook die bloemoorsprong.

Daar is verskeie faktore wat die heuning se komposisie kan beïnvloed, byvoorbeeld die blombron, die weer, die grond tipe en die seisoen (Francis & Gontier, 1982a; Alvarez-Suarez *et al.*, 2014). Die blombron is die faktor wat die grootste impak het en waarin verbruikers en vervaardigers die meeste belang stel, terwyl die geografiese oorsprong ook gewig dra in die verbruiker se voorspraak (Latorre *et al.*, 2013). Suid-Afrika het 'n baie uiteenlopende flora wat nektar vir heuningproduksie deur bye voorsien (Khan *et al.*, 2014). Ten minste 45% van die totale stuifmeeltellings moet van 'n enkele verteenwoordigende plantspesie wees vir 'n heuning om geklassifiseer te word as 'n enkelblomheuning (Louveaux *et al.*, 1978). Die markwaarde van enkelblomheunings is gereeld hoër as multiblomheunings, aangesien dit meer gesondheidsvoordele en spesifieke smake het (Salonen & Julkunen-Tiitto, 2012).

Etiket wat in die Europese Unie (EU) gebruik word om voedsel met spesifieke geografiese oorsprong te erken is Beskermd Geografiese Aanduiding (BGA), Beskermd Oorsprongbeskrywing (BOB) en Tradisionele Spesialiteit Gewaarborg (TSG). BGA is vir voedsel en landbouprodukte wat gedurende ten minste een stadium van produksie gekoppel is aan 'n geografiese gebied. BOB is vir voedsel en landbouprodukte wat tydens elke stap van die produksie verband hou met 'n geografiese gebied. Laastens is TSG vir voedsel en landbouprodukte wat tradisionele grondstowwe bevat, tradisionele produksiemetodes volg of 'n tradisionele chemiese samestelling het wat nie verband hou met die geografiese oorsprong van die produk nie (Dias & Mendes, 2018). As kosse so gemerk word, bevoordeel dit die persentasie wins daarop asook kompetisie op die internasionale mark. Maar om hierdie etikette te kan aanbring, moet die oorsprong van die voedsel bepaal word.

Die blom-oorsprong van heuning is in die verlede deur middel van palinologie (die bestudering van stuifmeel) bepaal (Louveaux *et al.*, 1978). Met hierdie metode word die stuifmeel uit die heuning geëkstraheer deur middel van filtrasie; die stuifmeel korrels word dan getel en geïdentifiseer deur dit met literatuur te vergelyk. 'n Beperking van hierdie metode is dat sommige plante baie stuifmeel en ander min het. So kan hulle onder- of oor-verteenvoerdig word tydens die analise. Indien dit nie in ag geneem word nie, kan die botaniese oorsprong verkeerd geïdentifiseer word. Dit is 'n baie lang proses en dit vereis 'n deskundige met baie ondervinding (de Alda-Garcilope *et al.*, 2012). Hoëprestasie-vloeistofchromatografie (HPLC), gaschromatografie (GC), gaschromatografie-massaspektrometrie (GC-MS) en 'n elektroniese neus is ander metodes wat ook gebruik word om heunings te klassifiseer volgens hul botaniese oorsprong (Chen *et al.*, 2012), maar hierdie metodes is moeilik en tydrowend. Al hierdie bogenoemde toetse word nie in Suid-Afrika gedoen nie, aangesien Suid-Afrika nie die geakkrediteerde laboratoriums het om dit uit te voer nie.

Naby-infrarooi (NIR)-spektroskopie is 'n goedkoper en vinnige metode van analise (Woodcock *et al.*, 2007). Dit is ook maklik om te gebruik en benodig nie 'n deskundige om dit uit te voer soos palinologiese metodes nie. Tradisioneel is dit gebruik om voedselkomponente te kwantifiseer. NIR-spektroskopie gebruik die naby-infrarooi-gebied van die elektromagnetiese spektrum met golflengtes van ongeveer 780-2500 nm (Pasquini, 2003; Manley *et al.*, 2008). Hierdie tegnologie is gebaseer op molekulêre oortone en kombinasie-vibrasie absorpsies (Jha, 2016). 'n Voordeel van NIR-spektroskopie is dat dit 'n monster dieper kan penetreer as mid-IR wat dit dus meer sensitief maak.

Heuning is een van die mees komplekse voedingsmiddele wat in die natuur voorkom en word dus as meerveranderlik gesien (Corbella & Cozzolino, 2006). As slegs een aspek van heuning in ag geneem word, kan heuning maklik verkeerd geïdentifiseer word. 'n Meerveranderlike statistiese analise soos hoofkomponentanalise (PCA) en diskriminantanalise is verkenninganalises wat dit moontlik maak om na die spektra van die verskillende monsters as 'n geheel te kyk en nie net na een komponent daarvan nie. Voorafbehandelingsmetodes soos standaard-normale veranderlike (SNV) (Barnes *et al.*, 1989), tendensverwydering (DT), veelvuldige-verspreidingskorreksie (MSC)

(Geladi *et al.*, 1985) en afgeleides word gebruik om geraas en steurings van die spektrale data te verwyder (Savitzky & Golay, 1964) en daarna word chemometriese wiskunde aangewend om die nodige inligting uit die spektra te ekstraheer (Heise & Winzen, 2006). Parsiële kleinste kwadratediskriminantanalise (PLS-DA) (Barker & Rayens, 2003) is in die heuning-navorsing gebruik om heuning te klassifiseer volgens botaniese- en geografiese oorsprong asook om vervalsing op te spoor (Woodcock *et al.*, 2007; Latorre *et al.*, 2013; Guelpa *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2017a; Bisutti *et al.*, 2019).

Die meeste van die studies wat gedoen is oor heuning met NIR-spektroskopie is vervalsingstudies (Downey *et al.*, 2004; Zhu *et al.*, 2010; Bázár *et al.*, 2016; Guelpa *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2017b). Vervalsing is wanneer suikers wat nie natuurlik in die heuning voorkom nie bygevoeg word om dit te vermeerder. Suikers wat gebruik word vir vervalsing is, onder andere, hoëfruktosemieliestroop en rysstroop. Suid-Afrika produseer ongeveer 2 000 ton (Preuss, 2019) heuning elke jaar, maar die verbruik is meer, dus word daar nog 5 261 ton ingevoer volgens die Trademap (2019) en die meeste van die invoere kom van Sjina (Department of Agriculture, 2016). 'n Groot bekommernis vir die heuning-industrie is dat daar nie altyd sekerheid is dat die heuning wat ingevoer word, nie vervals is nie (Walker, 2017). Studies om heunings volgens hul botaniese (Chen *et al.*, 2012; Escuredo *et al.*, 2015; Tahir *et al.*, 2016; Bisutti *et al.*, 2019) en geografiese oorsprong (Woodcock *et al.*, 2007; Latorre *et al.*, 2013) te klassifiseer, is ook gedoen. Laastens is daar studies gedoen om die anti-oksidente te meet, volging van die dehidrasieproses en klassifikasie van heuning afkomstig van verskillende byspesies (Escuredo *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2014a; Leme *et al.*, 2018).

Met NIR-spektroskopie is monstervoorbereiding 'n belangrike aspek omdat dit die spektra kan beïnvloed, en met die bogenoemde studies is sommige van die monsters met hoë temperature behandel (Zhu *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2014a; Guelpa *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2017b) wat chemiese veranderinge in die heuning kan veroorsaak en dus die spektra ook beïnvloed (Townsend, 1976). Eksterne variasie soos die totale opgeloste vaste stowwe (TSS) en voginhoud tussen monsters moet soveel as moontlik verminder word sodat, wanneer modelle gebou word, die fokus op die ware verskille tussen die monsters lê en nie op die eksterne faktore nie (Workman Jr., 2004). Omdat heuning se °Brix-inhoud tussen 76 en 85 (Oroian & Sorina, 2017) lê is dit belangrik om dit te standaardiseer (Downey *et al.*, 2004; Woodcock *et al.*, 2007; Zhu *et al.*, 2010; Guelpa *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2017b).

Slegs een studie is oor Suid-Afrikaanse heuning gedoen (Guelpa *et al.*, 2017) en, aangesien die botaniese en geografiese oorsprong die grootste invloed op die chemiese samestelling van heuning het, verskil lande se heuning van mekaar (Crane, 1976). Guelpa *et al.* (2017) het wel gapings in die studie gelaat waar daar nie aandag gegee is aan hoe die monsters geberg was oor die vier jaar van monster versameling nie en ook was die monsters teen hoë temperature (55°C) verhit vir die kristalle om op te los voor verdere monstervoorbereiding. Sommige van die monsters is aangekoop sonder die versekering dat hulle nie enige prosessering ondergaan het nie. Hierdie drie aspekte veroorsaak

chemiese veranderinge in die heuning en dus moet daar nog navorsing oor Suid-Afrikaanse heuning gedoen word met monsters wat eg is en wat korrekte monstervoorbereiding ondergaan het.

Die doel van die studie was om tussen Suid-Afrikaanse heunings met verskillende botaniese of geografiese oorspronge te onderskei met NIR-spektroskopie en meerveranderlike statistiese analises. Die spesifieke doelwitte was om metodes en modelle te ontwikkel wat:

- twee verskillende groepe kommersiële Suid-Afrikaanse enkelblom-heunings [fynbos (Sandveld en Strandveld) en ‘ander’ (lusern, makadamia, rooibloekom, saligna, sitrus)] van mekaar te kan onderskei; en
- dit toelaat om tussen heunings met drie verskillende geografiese oorspronge (Hopefield, Stanford en Stellenbosch) te onderskei onafhanklik van die botaniese oorsprong.

VERWYSINGS

- Alda-Garcilope, C. de, Gallego-Picó, A., Bravo-Yagüe, J.C., Garcinuño-Martínez, R.M. & Fernández-Hernando, P. (2012). Characterization of Spanish honeys with protected designation of origin “Miel de Granada” according to their mineral content. *Food Chemistry*, **135**, 1785–1788.
- Allsop, K.A. & Miller, J.B. (1996). Honey revisited: a reappraisal of honey in pre-industrial diets. *British Journal of Nutrition*, **75**, 513–520.
- Alvarez-Suarez, J.M., Gasparri, M., Forbes-Hernández, T.Y., Mazzoni, L. & Giampieri, F. (2014). The composition and biological activity of honey: A focus on manuka honey. *Foods*, **3**, 420–432.
- Barker, M. & Rayens, W. (2003). Partial least squares for discrimination. *Journal of Chemometrics*, **17**, 166–173.
- Barnes, R.J., Dhanoa, M.S. & Lister, S.J. (1989). Standard normal variate transformation and de-trending of near-infrared diffuse reflectance spectra. *Applied Spectroscopy*, **43**, 772–777.
- Bázár, G., Romvári, R., Szabó, A., Somogyi, T., Éles, V. & Tsenkova, R. (2016). NIR detection of honey adulteration reveals differences in water spectral pattern. *Food Chemistry*, **194**, 873–880.
- Bisutti, V., Merlanti, R., Serva, L., Lucatello, L., Mirisola, M., Balzan, S., Tenti, S., Fontana, F., Trevisan, G., Montanucci, L., Contiero, B., Segato, S. & Capolongo, F. (2019). Multivariate and machine learning approaches for honey botanical origin authentication using near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, **27**, 65–74.
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R. & Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health: A review. *Journal of the American College of Nutrition*, **27**, 677–689.
- Chen, G., Sun, X., Huang, Y. & Chen, K. (2014). Tracking the dehydration process of raw honey by synchronous two-dimensional near infrared correlation spectroscopy. *Journal of Molecular*

Structure, **1076**, 42–48.

- Chen, L., Wang, J., Ye, Z., Zhao, J., Xue, X., Heyden, Y. Vander & Sun, Q. (2012). Classification of Chinese honeys according to their floral origin by near infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, **135**, 338–342.
- Corbella, E. & Cozzolino, D. (2006). Classification of the floral origin of Uruguayan honeys by chemical and physical characteristics combined with chemometrics. *LWT - Food Science and Technology*, **39**, 534–539.
- Crane, E. (1976). The flowers honey comes from. In: *Honey: A Comprehensive Survey* (edited by E. Crane). Pp. 3–76. London, England: William Heinemann Ltd.
- Department of Agriculture. (2016). Tradeprobe. *International TradeProbe*, **64**, 1–13.
- Dias, C. & Mendes, L. (2018). Protected designation of origin (PDO), protected geographical indication (PGI) and traditional speciality guaranteed (TSG): a bibliometric analysis. *Food Research International*, **103**, 492–508.
- Divched, W.J. (2007). The chemical composition of honey. *Journal of Chemical Education*, **84**, 1643–1646.
- Downey, G., Fouratier, V. & Kelly, J. (2004). Detection of honey adulteration by addition of fructose and glucose using near-infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, **11**, 447–456.
- Escuredo, O., González-Martín, M.I., Rodríguez-Flores, M.S. & Seijo, M.C. (2015). Near infrared spectroscopy applied to the rapid prediction of the floral origin and mineral content of honeys. *Food Chemistry*, **170**, 47–54.
- Escuredo, O., Seijo, M.C., Salvador, J. & González-Martín, M.I. (2013). Near infrared spectroscopy for prediction of antioxidant compounds in the honey. *Food Chemistry*, **141**, 3409–3414.
- Francis, C. & Gontier, F. (1982). What is honey. In: *The Book of Honey*. Pp. 9–12. Cape Town, South Africa: Howard Timmins Ltd.
- Geladi, P., MacDougall, D. & Martens, H. (1985). Correction for near-infrared reflectance spectra of meat. *Applied Spectroscopy*, **39**, 491–500.
- Guelpa, A., Marini, F., Plessis, A. du, Slabbert, R. & , Marena, M. (2017). Verification of authenticity and fraud detection in South African honey using NIR spectroscopy. *Food Control*, **73**, 1388–1396.
- Heise, H.M. & Winzen, R. (2006). Fundamental chemometric methods. In: *Near-Infrared Spectroscopy* (edited by H.W. Siesler, Y. Ozaki, S. Kawata & H.M. Heise). Pp. 125–162. Weinheim, Germany: Wiley-VCH.
- Jha, S.N. (2016). Spectroscopy and chemometrics. In: *Rapid Detection of Food Adulterants and*

- Contaminants* (edited by K.R. Miller). Pp. 147–214. San Diego: Academic Press Publications.
- Khan, F., Hill, J., Kaehler, S., Allsopp, M. & Vuuren, S. van. (2014). Antimicrobial properties and isotope investigations of South African honey. *Journal of Applied Microbiology*, **117**, 366–379.
- Latorre, C.H., Crecente, R.M.P., Martín, S.G. & García, J.B. (2013). A fast chemometric procedure based on NIR data for authentication of honey with protected geographical indication. *Food Chemistry*, **141**, 3559–3565.
- Leme, L.M., Rocha Montenegro, H., Rocha dos Santos, L. da, Sereia, M.J., Valderrama, P. & Março, P.H. (2018). Relation between near-infrared spectroscopy and physicochemical parameters for discrimination of honey samples from jatai weyrauchi and jatai angustula bees. *Food Analytical Methods*, **11**, 1944–1950.
- Li, S., Zhang, X., Shan, Y., Su, D., Ma, Q., Wen, R. & Li, J. (2017a). Qualitative and quantitative detection of honey adulterated with high-fructose corn syrup and maltose syrup by using near-infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, **218**, 231–236.
- Li, Y., Jin, Y., Yang, S., Zhang, W., Zhang, J., Zhao, W., Chen, L., Wen, Y., Zhang, Y., Lu, K., Zhang, Y., Zhou, J. & Yang, S. (2017b). Strategy for comparative untargeted metabolomics reveals honey markers of different floral and geographic origins using ultrahigh-performance liquid chromatography-hybrid quadrupole-orbitrap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, **1499**, 78–89.
- Louveaux, J., Maurizio, A. & Vorwohl, G. (1978). Methods of melissopalynology. *Bee World*, **59**, 139–157.
- Manley, M., Downey, G. & Baeten, V. (2008). Spectroscopic technique: near-infrared (NIR) spectroscopy. In: *Modern Techniques for Food Authentication* (edited by D.-W. Sun). Pp. 65–116. Oxford: Elsevier.
- Morgano, M.A., Teixeira Martins, M.C., Rabonato, L.C., Milani, R.F., Yotsuyanagi, K. & Rodriguez-Amaya, D.B. (2012). A comprehensive investigation of the mineral composition of Brazilian bee pollen: Geographic and seasonal variations and contribution to human diet. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **23**, 727–736.
- Oroian, M. & Sorina, R. (2017). Honey authentication based on physicochemical parameters and phenolic compounds. *Computers and Electronics in Agriculture*, **138**, 148–156.
- Pasquini, C. (2003). Near infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **14**, 198–219.
- Preuss, H. (2019). SA beekeepers are declining despite robust honey demand [Internet document] URL <https://www.iol.co.za/business-report/economy/sa-beekeepers-are-declining-despite-robust-honey-demand-31706667>. Accessed 28/08/2020.

- Prica, N., Živkov-Baloš, M., Jakšić, S., Mihaljev, Ž., Kartalović, B., Babić, J. & Savić, S. (2014). Moisture and acidity as indicators of the quality of honey originating from Vojvodina region. *Arhiv veterinarske medicine*, **7**, 99–109.
- Salonen, A. & Julkunen-Tiitto, R. (2012). Characterisation of two unique unifloral honeys from the boreal coniferous zone: Lingonberry and mire honeys. *Agricultural and Food Science*, **21**, 159–170.
- Savitzky, A. & Golay, M.J.E. (1964). Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. *Analytical Chemistry*, **36**, 1627–1639.
- Sohaimy, S.A. El, Masry, S.H.D. & Shehata, M.G. (2015). Physicochemical characteristics of honey from different origins. *Annals of Agricultural Sciences*, **2**, 279–287.
- Tahir, H.E., Xiaobo, Z., Tinting, S., Jiyong, S. & Mariod, A.A. (2016). Near-infrared (NIR) spectroscopy for rapid measurement of antioxidant properties and discrimination of sudanese honeys from different botanical origin. *Food Analytical Methods*, **9**, 2631–2641.
- Townsend, G.F. (1976). Processing and storing liquid honey. In: *Honey: A Comprehensive Survey* (edited by E. Crane). Pp. 207–239. London, England: William Heinemann Ltd.
- Trademap. (2019). International Trade Centre [Internet document] URL https://www.trademap.org/Country_SelProductCountry.aspx?nvpm=1%7C710%7C%7C%7C%7C0409%7C%7C%7C4%7C1%7C1%7C1%7C1%7C%7C2%7C1%7C1%7C1. Accessed 13/08/2020.
- Walker, P. (2017). A burning issue that needs to be resolved. *The South African Bee Journal*, **90**, 13–15.
- White, J.W. (1976a). Physical characterisations of honey. In: *Honey: A Comprehensive Survey* (edited by E. Crane). Pp. 207–239. London, England: William Heinemann Ltd.
- White, J.W. (1976b). Composition of honey. In: *Honey: A Comprehensive Survey* (edited by E. Crane). Pp. 157–206. London, England: William Heinemann Ltd.
- Woodcock, T., Downey, G., Kelly, J.D. & O'Donnell, C. (2007). Geographical classification of honey samples by near-infrared spectroscopy: A feasibility study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 9128–9134.
- Workman Jr., J. (2004). Near-infrared spectrophotometers. In: *Near-Infrared Spectroscopy in Agriculture* (edited by Al-Amoodi). Pp. 11–32. Wisconsin, USA: American Society of Agronomy, Crop Science of America, Soil Science of America.
- Zhu, X., Li, S., Shan, Y., Zhang, Z., Li, G., Su, D. & Liu, F. (2010). Detection of adulterants such as sweeteners materials in honey using near-infrared spectroscopy and chemometrics. *Journal of Food Engineering*, **101**, 92–97.

HOOFSTUK 2

LITERATUURSTUDIE

AGTERGROND

Heuning word elke dag oor die wêreld heen verbruik omdat mense dit as 'n suikervervanging aanwend, aangesien dit die natuur se natuurlike versoeter is. Vir duisende jare was heuning die enigste vorm van versoeter wêreldwyd (Divched, 2007). Heuning word natuurlik deur bye geproduseer, maar is eintlik 'n byproduk van die bestuiwingsproses wat die oorlewing van plantspesies verseker (Crane, 1976).

Heuningbye produseer heuning van nektar afkomstig van plante en heuningdou (Anklam, 1998) waar nektar optree as 'n strik om bestuiwers te lok sodat bestuiwing kan plaasvind (Crane, 1976). Bye drink die nektar afkomstig van plante, en die chemiese reaksie in die by, om heuning te produseer, begin byna onmiddellik. Die werkerby dra die nektar na die huisby wat in die korf is, wat dan die nektar in die heuningkoek oorplaas. Bye is gedurig besig om hul vlerke te flap vir vogverdamping van die nektar terwyl die heuningkoekselle voortdurend gevul word met nektar totdat dit vol is. Daarna word dit met vars byewas geseël (Divched, 2007). *Apis mellifera* is die gewone heuningbye wat bekend is aan almal en die grootste bydrae tot die wêreld se heuning maak. Angellose (*Trigona* en *Melipona*) bye is nie so bekend aan almal nie, maar produseer ook heuning en kan in tropiese gebiede gevind word (Crane, 1976).

Verskeie faktore beïnvloed die geur en aroma van heuning. Twee van die grootste faktore wat dit beïnvloed is die blom en geografiese oorsprong (Crane, 1976). Die huidige metode om die blom oorsprong te bepaal is tydrowend en 'n deskundige word hier benodig. Naby-infrarooi (NIR)-spektroskopie is 'n moderne metode van analise wat reeds wyd in die voedselindustrie gebruik word (Büning-Pfaue, 2003; Giraudo *et al.*, 2019; López-Maestresalas *et al.*, 2019; Williams *et al.*, 2019). In teenstelling met die huidige metode van analise vir heuning kan NIR-spektroskopie vinnige identifikasie resultate lewer en dis maklik om te gebruik.

In hierdie bespreking word daar gekyk na die chemie van heuning, heuning in Suid-Afrika, die huidige metodes van heuning-analiserings en die moontlike gebruik van spektroskopiese analises. Die geskiedenis en grondbeginsels van NIR-spektroskopie word bespreek. Die verskil tussen 'n mobiele handmodel en 'n tafelinstrument word verduidelik en daarna word die chemometrie wat die meeste in die heuningindustrie gebruik word, bespreek. Die toepassing van NIR-spektroskopie op heuning van vorige studies word ondersoek en bespreek om te sien wat die potensiaal van die gebruik van die tegniek in die veld is.

SAMESTELLING VAN HEUNING

Heuning bestaan hoofsaaklik uit koolhidrate en in die meeste heunings oorheers levulose (fruktose) die dekstrose (glukose) (White, 1976b). Saam maak dit 85 tot 95% van die koolhidraat samestelling uit, en die oorblywende persentasie bestaan uit komplekse suikers met geringe hoeveelhede van polisakkariede. Die koolhidraatsamestelling verander gedurig met tyd soos waargeneem in 'n vroeëre studie deur Jiménez *et al.*, (1994). In die studie is heuning vir twee jaar by kamertemperatuur gestoor en die maltose het ongeveer met 69% gestyg en 'n afname van 86% is waargeneem in dekstrose en levulose. Oligosakkariede styg met suuromkering en ensiemaktiwiteit (heuninginvertase), en die oordrag van die glukosielresidu na vog is hoe monosakkariede gevorm word. As gevolg van die lae voginhoud bevoordeel heuning die akkumulasie van die disakkariede. Disakkariede en koolhidrate word gevorm wanneer daar 'n gekonsentreerde oplossing van monosakkariede in die teenwoordigheid van sure is. Die sure in heuning dra nie net tot die smaak by nie, maar ook tot die mikrobiese aktiwiteit. Tydens rypwording verhoog die suurheid, maar indien die pH laer as 3.5 is, verhoog die kans van bederwing.

Heuning kristalliseer natuurlik onder normale bergingstoestande weens die oorversadiging van die glukosemonohidraat (White, 1976a). Die kristallasieproses verskil vir elke heuning en die tipe kristalle verskil ook tussen heuningtipes. Die samestelling van die heuning is baie afhanklik van die tipe blomme waarvan die bye stuifmeel gekry het, en dus die tipe en tempo van kristalvorming beïnvloed. Op sommige heuningsoorte vorm wit lugborrels op die boonste laag van gekristalliseerde heuning, maar dit beteken nie dat die heuning bederf is nie, dit is net deel van die kristallasieproses (Francis & Gontier, 1982b).

Water speel 'n belangrike rol in heuning, aangesien dit chemiese veranderinge kan beïnvloed (Prisca *et al.*, 2014). Die wettige voginhoud in Suid-Afrika is 20%, maar meer as dit kan die bederf van die heuning veroorsaak (Department of Agriculture, 2000; Prisca *et al.*, 2014). Hierdie verskynsel gebeur wanneer die voginhoud gisting veroorsaak. Daar is al verskeie soorte gis van heuning af geïsoleer, maar wat interessant is, is hoe die gis in die heuning beland (White, 1976a). Daar is gevind dat gis in nektar voorkom, maar kan ook vanaf die by se liggaam, die grond of lug in die korf in die heuning kom. Die fermentasieproses vorm alkohol, en in die teenwoordigheid van suurstof sal die alkohol afgebreek word na asynsuur en water wat dus tot 'n suur, bederfde heuning lei (Prisca *et al.*, 2014).

Heuning, in teenstelling met vrugte en groente, behou vitamienes tydens oes, voorbereiding en berging (tensy dit oorverhit word). Dit bevat baie vitamienes en spoorminerale wat voedsaam vir die mens is. **Tabel 2.1** gee die wateroplosbare vitamienes se inhoud van heuning, bepaal met behulp van hoëprestasie-vloeistofchromatografie (HPLC) (León-Ruiz *et al.*, 2011, 2013) weer.

Tabel 2.1 Gemiddelde hoeveelhede van wateroplosbare vitamien teenwoordig in heuning.

Vitamien	Gemiddeld (mg/100 g)	Verwysings
B ₁ (Tiamien)	102.6	(León-Ruiz <i>et al.</i> , 2013)
B ₂ (Riboflavin)	101.1	
B ₃ H (Nikotiensuur)	109.4	
B ₃ N (Niasien)	86.3	
B ₅ (Pantoteensuur)	90.1	
B ₆ (Piridoksien)	95.0	(León-Ruiz <i>et al.</i> , 2011)
C (Askorbiensuur)	12.99	

Die minerale in **Tabel 2.2** is gekwantifiseer deur induktief gekoppelde plasma-optiese emissiespektrometrie (ICP-OES) in Brasilië, en Brasiliaanse heuning is vir die studie gebruik (Morgano *et al.*, 2012). Daar is gevind dat die seisoen, wanneer heuning gemaak is, en geografiese oorsprong 'n invloed op die minerale-inhoud het.

Tabel 2.2 Getoetste minerale wat in heuning voorkom (aangepaste tabel van Morgano *et al.*, 2012).

Mineraal	Gemiddeld (mg/kg)	Interval (mg/kg)
Kalsium	2215	828-4670
Magnesium	1179	348-3621
Sink	47	5-76
Fosfor	4828	2177-8165
Kalium	5089	1431-9910
Koper	9.6	3.2-25.4
Yster	82	11.1-551.6
Mangaan	64	12-211
Natrium	85	<0.004-1466
Seleen	0.51	<0.01-4.45

Verskillende heunings het verskeie eienskappe, dus verskil hulle in smaak, kleur en tekstuur (Francis & Gontier, 1982b). Die seisoen wanneer die heuning uit die korf gehaal word, die klimaat, weerpatrone, grond en tipe plant het 'n invloed. Gewoonlik is die heunings wat in herfs verkry word, ryker in yster asook ander minerale, en is donkerder van kleur.

Daar is slegs ongeveer 0,1 tot 0,5% proteïen in heuning en in die 1900's is daar ontdek dat heuning protease-, albumien-, peptoon- en globulienproteïene bevat (Naila *et al.*, 2018).

HEUNING IN SUID-AFRIKA

Suid-Afrika het 'n baie uiteenlopende flora wat meer as 30 000 spesies insluit, en daar is meer as 100 betekenisvolle stuifmeel- en nektarproduserende plante (Khan *et al.*, 2014). Minstens 38 van

hierdie plante is inheems aan Suid-Afrika. Daar is multiblom- of enkelblom-heuning en word ook so geklassifiseer, maar vir 'n heuning om as 'n enkelblom heuning geklassifiseer te word (**Tabel 2.3**), moet minstens 45% van die totale stuifmeeltelling van een afsonderlike plantspesie kom (Louveaux *et al.*, 1978). **Tabel 2.3** toon sommige van die plantspesies in Suid-Afrika wat meer as 40% van die voeding aan heuningbykolonies voorsien.

Tabel 2.3 Plantspesies wat meer as 40% van die stuifmeel en nektar aan heuningbykolonies in Suid-Afrika voorsien (aangepaste tabel van Hutton-Squire, 2014).

Algemene naam	Wetenskaplike naam	Kategorie	Status
Salignabloekom	* <i>E. grandis</i>	Eukaliptus	Uitheems
Soetdoring	<i>Acacia karroo</i>	Boom	Inheems
Katdoring	<i>Scutia myrtina</i>	Struik	Inheems
Gryssterbasbloekom	<i>E. paniculata</i>	Eukaliptus	Uitheems
Wag-'n-bietjie	<i>Ziziphus mucronata</i>	Boom	Inheems
Gewone haakdoring	<i>Acacia caffra</i>	Boom	Inheems
Sitrus	<i>Citrus spp.</i>	Gewas	Uitheems
Sonneblom	<i>Helianthus annuus</i>	Gewas	Uitheems
Swartsterbasbloekom	<i>E. sideroxylon</i>	Eukaliptus	Uitheems
Avokado	<i>Persea americana</i>	Gewas	Uitheems
Makadamia	<i>Macadamia integrifolia</i>	Gewas	Uitheems
Lietsjie	<i>Litchi chinensis</i>	Gewas	Uitheems
Haakdoring	<i>Acacia mellifera</i>	Boom	Inheems
Lusern	<i>Medicago sativa</i>	Gewas	Uitheems
Mesquite	<i>Prosopis spp.</i>	Boom	Uitheems
Kanniedood	<i>Aloe grandidentata</i>	Struik	Inheems
Haak-en-steek	<i>Acacia tortilis</i>	Boom	Inheems
Ui	<i>Acacia cepa</i>	Gewas	Uitheems
Pampoen	<i>Cucurbita spp.</i>	Gewas	Uitheems
Rooibloekom	<i>E. camaldulensis</i>	Eukaliptus	Uitheems
Geelbuksbloekom	<i>E. melliodora</i>	Eukaliptus	Uitheems
Winteronkruid	<i>Senecio latifolius</i>	Onkruid	Inheems
Skilpadbos spp.	<i>Zygopyllum spp.</i>	Struik	Inheems
Suikerbloekom	<i>E. cladocalyx</i>	Eukaliptus	Uitheems
Kanola	<i>Brassica napus var. oleifera</i>	Gewas	Uitheems
Echium	<i>Echium plantagineum</i>	Onkruid	Uitheems

**E. (Eukaliptus)*

Bestuiwing-ekosisteedienste in Suid-Afrikaanse landboustelsels

Die bestuiwing van gewasse, veral deur bye, is uiters belangrik, aangesien dit die gehalte en opbrengs van voedsel produksie verhoog (Melin *et al.*, 2014). Insekte soos heuningbye is die bestuiwers waarop boere die meeste staatmaak waar die bye wild in die natuur voorkom of deur byeboere bestuur kan word. Beide wilde en bestuurde heuningbye het wêreldwyd afgeneem, maar so ook het die vraag na bestuurde bye toegeneem wat 'n impak op die gewasproduksie kan hê

(Jones *et al.*, 2010). In Suid-Afrika is die heuningby orals inheems en teenwoordig. Hulle bied belangrike bestuivingsdienste en bestuif min of meer 60% van 'n wye verskeidenheid blom plante in Suid-Afrika (SABIO, 2008). Ander dele van die wêreld soos Noord-Amerika en Europa het 'n afname in hul heuningbye beleef, wat hulle dwing om na alternatiewe bestuiwers te kyk (Melin *et al.*, 2014). 'n Rede vir die afname is 'n gebrekkige of 'n gekompromitteerde dieet. Suid-Afrika het gelukkig nog nie hierdie afname in die heuningby gesien nie (Jones *et al.*, 2010).

Hutton-Squire (2014) het 'n studie gedoen oor die historiese verhouding van die heuningby (*Apis mellifera*) en die voer daarvan asook die huidige toestand van byeboerdery in Suid-Afrika. Hy het 'n vraelys aan byeboere landwyd versprei om inligting oor die voerspesies, wat van belang is vir heuningbye in te samel. In hierdie studie is sommige van die provinsies as 'n kombinasie gesien, aangesien hulle voer (stuifmeel en nektar) min of meer dieselfde is. Daar was ses provinsiale groeperings: Oos-Kaap; Vrystaat/Gauteng/Noordwes; KwaZulu-Natal; Mpumalanga/Limpopo; Noord-Kaap en die Wes-Kaap.

In elk van die provinsies het bestuurde heuningby-kolonies van inheemse en uitheemse spesies voer gekry. Daar is patrone van voergebruik oor die provinsies, maar al ses provinsiale gebiede het verskillende voersamestellings gehad. In Suid-Afrika is gevind dat uitheemse *Eukaliptus*-spesie die meeste voeding vir heuningbye verskaf het. Inheemse spesies word op 'n klein skaal, in vergelyking met uitheemse plante, deur byeboere regoor die land gebruik. Plantspesies wat >10% voeding aan heuningby-kolonies verskaf, word as belangrik beskou, dus word die *Eukaliptus*-spesie van belang geag (**Tabel 2.4**).

Eukaliptus is 'n indringerspesie en gebruik baie water, daarom is dit op die beheerlys van die Wet op Nasionale Omgewingsbestuur: Biodiversiteit (Wet 10 van 2004) (NEMBA, 2014). Dit beteken dat hulle die ses *Eukaliptus*-spesies wat op die beheerlys is, verwyder. Die ses is soos volg: *Eukaliptus camaldulensis* (Rooibloekom); *Eukaliptus cladocalyx* (Suikerbloekom); *Eukaliptus diversicolor* (Karie); *Eukaliptus grandis* (Salignabloekom); *Eukaliptus conferruminata* (Spinnekopbloekom) and *Eukaliptus tereticornis* (Bosrooibloekom). Die "Working for Water"-program is besig om die genoteerde *Eukaliptus* spesies, wat deur die Departement van Omgewingsbestuur befonds word, te beheer. In die Wes-Kaap is die uitheemse Suikerbloekom die grootste voerbron (78.98%), en die enigste inheemse boom van belang is *Acacia karroo* wat slegs 15.91% van die voerbronne uitmaak (Hutton-Squire *et al.*, 2014). Hulle het tot die gevolgtrekking gekom dat die verwydering van die *Eukaliptus*-indringerspesies, nie net in die Wes-Kaap nie, maar oor die hele land, 'n groot impak op die byeboerdery-industrie sal hê. Daarom word die lys van die bome om te verwydering tans heroorweeg.

Tabel 2.4 Plantspesies wat meer as 10% van die voere vir heuningbykolonies in die Wes-Kaap uitmaak (aangepaste tabel van Hutton-Squire *et al.*, 2014).

Algemene naam	Wetenskaplike naam	Kategorie	Status
Suikerbloekom	* <i>E. cladocalyx</i>	Eukaliptus	Uitheems
Kanola	<i>Brassica napus</i> var. <i>oleifera</i>	Gewas	Uitheems
Echium	<i>Echium plantagineum</i>	Onkruid	Uitheems
Rooibloekom	<i>E. camaldulensis</i>	Eukaliptus	Uitheems
Appel	<i>Malus domestica</i>	Gewas	Uitheems
Lusern	<i>Medicago sativa</i>	Gewas	Uitheems
Mesems	Mesems	Struik	Inheems
Ramenas	<i>Raphanus</i> <i>raphanistrum</i>	Onkruid	Uitheems
Sitrus	<i>Citrus</i> spp.	Gewas	Uitheems
Erica spp.	** <i>Erica</i> spp.	Struik	Inheems
Twartbloekom	<i>E. gomphocephala</i>	Eukaliptus	Uitheems
Salignabloekom	<i>E. grandis</i>	Eukaliptus	Uitheems
Protea spp.	** <i>Protea</i> spp.	Struik	Inheems
Swartysterbasbloekom	<i>E. sideroxylon</i>	Eukaliptus	Uitheems
Kool	<i>Brassica</i> spp.	Gewas	Uitheems
Boegoe	** <i>Agathosma</i> spp.	Struik	Inheems
Pruim	<i>Prunus</i> spp.	Gewas	Uitheems
Soetdoring	<i>Acacia karroo</i>	Boom	Inheems
Rooibloekom	<i>E. ficifolia</i>	Eukaliptus	Uitheems
Ui	<i>Allium cepa</i>	Gewas	Uitheems
Spinnekopbloekom	<i>E. lehmanni</i>	Eukaliptus	Uitheems
Druif	<i>Vitis vinifera</i>	Gewas	Uitheems

E. (Eukaliptus)* *deel van die fynbos bioom*

In Suid-Afrika word talle enkelblomheuning tipies uit landbougewasse of plantasiebosbou geproduseer (Van Rensburg, 1987). Daar is ook multiblomheuning geproduseer op natuurlike inheemse plantegroei, hoofsaaklik uit die fynbosbioom. Fynbos is 'n bioom wat op die punt van Suider-Afrika teenwoordig is, waar byna alle spesies endemies aan Suid-Afrika is. Fynbos is uniek aan Suid-Afrika en strek van sommige dele van die Noord-Kaap na die Wes-Kaap en na sommige dele van die Oos-Kaap (Mucina *et al.*, 2006). Fynbos beskryf die plantegroei wat klein, harde groen blare het en in nat winters en droë somers groei. Fynbosheuning is meestal nie enkelblom nie, en oor die algemeen word dit bemark as die subtypes waar dit geproduseer word, soos Sandveldheuning wat op die Weskus en Strandveldheuning wat in die Suid-Kaapland geproduseer word.

STUIFMEEL- EN CHEMIESE ANALISE

Die heuningpalinologie-analise word gebruik om die botaniese oorsprong van heuning te bepaal (Louveaux *et al.*, 1978; Thakodee *et al.*, 2018), maar die probleem met die bepaling van die botaniese oorsprong is dat sommige blomme nie baie stuifmeel het nie, terwyl ander baie het wat een van die verskeie faktore is wat die hoeveelheid stuifmeel in heuning beïnvloed (Maurizio, 1976; Louveaux *et al.*, 1978). Indien die blom van nature baie stuifmeel het, kan dit oorverteenvoerdig wees in die heuning en andersom met blomme wat min stuifmeel het. Die afstand wat die bye van die voerbron na die korf moet vlieg, het ook 'n invloed. Hoe verder die voerbron, hoe meer stuifmeel sal verlore gaan en daarom is daar nie altyd 'n oorfloed stuifmeel in die heuning om mee te begin nie. Verdunde nektar sal 'n stuifmeelryke heuning produseer, aangesien daar meer water sal wees wat uit die heuning verdamp moet word. As die nektar gekonsentreerd is, sal die stuifmeel per eenheidsvolume nie veel verander nie. Die stuifmeelanalise word nie net vir die botaniese-oorspronganalise gebruik nie, maar kan ook die geografiese oorsprong van die heuning bepaal. Vir 'n ontleder is dit maklik om die land van herkoms te bepaal, aangesien hulle sekere plante met sekere lande verbind; dit is wel moeisaam om te bepaal uit watter streek van 'n land die heuning kom.

Heuning palinologie metodes is in 'n onlangse studie (El Sohaimy *et al.*, 2015), gebaseer op die fisies-chemiese eienskappe van heuning van verskillende geografiese oorspronge, gebruik. Persentasies van die botaniese bronne waaruit die heuning bestaan, is gekwantifiseer tot so laag as 1%.

Ander chemiese analyses is ook gebruik om die botaniese en geografiese oorspronge van heuning te bepaal (Pascual-maté *et al.*, 2018). Elektriese geleidingsvermoë wat meestal verband hou met die minerale in die heuning is met 'n geleidingsmeter gemeet. Die minerale verskil volgens die botaniese oorsprong. Viskositeit word bepaal deur die temperatuur en die hoeveelheid vog in die heuning. Dit word met 'n viskositeitsmeter bepaal wat kan help om die botaniese oorsprong te bepaal. Die hoof ensieme in heuning sluit in: diatase, invertase, β -glukosidase, glukose-oksidasie, katalase en suurfosfatase. Hierdie ensieme word elkeen met 'n ander chemiese metode ontleed en hou verband met die botaniese oorsprong. Proteïene is met ionuitruilchromatografie bepaal en kan gebruik word om die botaniese oorsprong te bepaal. 'n Onlangse studie is gedoen om die egtheid van heuning met nie-ekstraheerbare proteïene te bepaal (Dong *et al.*, 2018). Dit is gedoen met behulp van 'n elementêre ontleder en vloeibarechromatografie tesame met isotoop-rantsoenmassaspektroskopie (IRMS). Dit was die eerste studie wat gedoen is om heuning te verifieer deur nie-ekstraheerbare proteïene te gebruik. Proteïene is ook al gebruik om vervalsing in heuning uit te wys. Vervalsing is wanneer daar 'n produk wat nie van bye afkomstig is nie by heuning gevoeg word (Department of Agriculture, 2000). In heuning se geval is dit suiker wat bygevoeg word. Laastens is daar voorgestel dat aminosure gebruik kan word om die geografiese oorsprong te bepaal, aangesien die aminosuurkomposisie meer van die bye as die tipe blom afhang (Pascual-maté

et al., 2018). Dit kan chromatografies (ionies, gas of HPLC) ontleed word. Sommige van die chemiese analyses is uitgedien of word baie min gebruik. Spektroskopiese metodes het oor die jare van die chemiese metodes vervang, aangesien dit goedkoper, vinniger en min tot geen monstervoorbereiding benodig (Workman Jr. & Shenk, 2004).

BEGINSELS EN TEORETIESE AGTERGROND VAN NIR-SPEKTROSKOPIE

Geskiedenis en grondbeginsels van NIR-spektroskopie

Frederick William Herschel was die eerste waarnemer van NIR terwyl hy die sonlig in die 1800's bestudeer het (Lin *et al.*, 2009). Hy wou die hitte van sy teleskoop filtreer, maar het gevind dat die uitstraling van lig verder gaan as wat die menslike oog kan waarneem. Eers in die 20ste eeu is hierdie metode weer gebruik, en die Beckman IR-1 was die eerste kommersiële infrarooi(IR)-instrument wat gebruik is om rubber- en petroleumvelde in die jaar 1942 te analiseer. Maar beperkings van die regering het dit moeilik gemaak om hierdie instrumente te verkoop.

Karl Norris wou in die 1950's 'n vogmeter vir graanprodukte ontwikkel, maar daar was inmenging met die absorpsie van ander komponente soos proteïene, olie en stysel (Williams *et al.*, 2019). Die probleem is opgelos deur gebruik te maak van meerveranderlike statistiese regressie tegnieke deur die NIR-spektra met verwysingswaardes te korreleer. Die oplossing was 'n groot deurbraak vir die NIR-analise wat toegelaat het vir die analise van water, asook vir produkte met 'n lae voginhoud. Dié het gelei tot die koop van die eerste kommersiële NIR-spektrofotometer in die wêreld deur Phil Williams om die kwaliteit van graan te toets. Deesdae, met NIR-spektroskopie, is dit moontlik om 'n voedselmonster binne sekondes te analiseer waar dit in die 1900's ure sou neem. NIR-spektroskopie word vandag wyd in die voedselindustrie gebruik, onder andere, vir die analise van oliesade en heelgrane (Dyer, 2004); koffie, tee, kakao, tabak, speserye, medisinale en aromatiese plante (Schulz, 2004); vetbepaling in hoender (Krepper *et al.*, 2018); karakterisering van vlugtige samestellings in wyn (Genisheva *et al.*, 2018); kwaliteitveranderinge in gebergte graan (Mishra *et al.*, 2018) en die opsporing van gemaalde lam en bees (López-Maestresalas *et al.*, 2019).

NIR-spektroskopie werk op die beginsel van vibrasie-spektroskopie (Pasquini, 2003; Manley *et al.*, 2008). Infrarooi-spektroskopie het drie streke, naamlik, naby-infrarooi, mid-infrarooi en ver-infrarooi. NIR val binne die golflengtereeks van 780-2500 nm. Die sigbare reeks van die elektromagnetiese spektrum is net onder die NIR-spektrum wat beteken die menslike oog toon geen reaksie vir die IR-reeks nie (Workman & Shenk, 2004). Die spektrum gee informasie oor die X-H chemiese bindings wat C-H, O-H en N-H insluit (Manley, 2014). Wanneer NIR-lig 'n voedselmonster penetreer, beweeg die molekules van 'n grondenergietoestand na 'n verhoogde energietoestand, en die atome gaan deur vibrasieveranderinge. Die frekwensie van die lig wat presies by die energie verskil tussen die grond en verhoogde toestand pas, sal geabsorbeer en opgetel word deur die spektrometer (Popping & Diaz-Amigo, 2014). Die biologiese komponente van die voedsel bepaal die

frekwensie van lig wat geabsorbeer word, aangesien die vibrasies spesifiek aan spesifieke funksionele groepe is (Lin *et al.*, 2009).

As gevolg van veelvuldige vibrasies is daar baie pieke wat oorvleuel wat dan breë bande vorm in plaas van individuele, duidelike pieke (Manley, 2014). Hierdie verskynsel word multikollineariteit genoem. Dit maak dit onmoontlik om die spektra visueel te interpreter en dus is dit nodig om met wiskundige en statistiese metodes die data te interpreteer.

Instrumentasie

'n Tipiese NIR-instrument bestaan uit 'n bron van bestraling, 'n golflengteseleksor, 'n monster, 'n detektor en 'n rekenaar vir data-analise (Lin *et al.*, 2009).

Aanbieding van monster

Daar is drie hoofmetodes om 'n monster aan die spektrometer voor te stel. Hierdie drie is transmissie, refleksie en transfleksie (Kawano, 2006).

Transmissie is wanneer die lig reg deur die monster beweeg en die lig wat nie deur die monster geabsorbeer word nie, word deur die detektorsisteem gemeet (Murray & Cowe, 2004). Met transmissie is die padlengte wat gebruik word van belang, aangesien dit die spektrale data sal beïnvloed. Die padlengte wat gebruik word, moet die digtheid van die monster in ag neem en die monsters is gewoonlik 'n vloeistof wat in 'n deursigtige kuvette gemeet word (Lin *et al.*, 2009).

Met diffusierefleksie dring die lig die monster binne en die lig wat met die monster reageer, word geabsorbeer voordat die res van die lig deur die detektorstelsel gemeet word (Murray & Cowe, 2004). Ligverspreiding is 'n groot komplikasie wat met diffusierefleksie gepaard gaan (Manley *et al.*, 2008). Hierdie verskynsel gebeur wanneer daar 'n interaksie tussen die lig en 'n korrelrige monster is. 'n Korrelrige monster het hoekige oppervlaktes wat maak dat die lig spekulêr gereflekteer word. Hierdie spekulêre lig word teruggestuur na die detektor, maar bevat geen informasie oor die komposisie van die monster nie.

Transfleksie is nie baie gewild nie, maar word in vloeibare strome en meestal in die mediese veld gebruik (Murray & Cowe, 2004). 'n Transfleksiesel vereis 'n reflekterende oppervlak, soos 'n spieël, aan die ander kant van die monster. Die lig integreer die monster en weerkaats teen 'n spieël-oppervlakte om die lig weer deur die monster te laat terugbeweeg. Van hierdie lig word deur die monster geabsorbeer en die res van die lig word deur die detektor gemeet. Met hierdie metode gaan die lig dus twee maal deur die monster.

Met NIR-spektroskopie is daar min tot geen monstervoorbereiding nodig nie, maar die tipe en aantal monsters is belangrike faktore (Kawano, 2006). Vir 'n goeie kalibrasie moet die kalibrasiemonsterstel 'n voorstelling wees van monsters wat in die toekoms deur NIR-spektroskopie

geskandeer sal word. Daarom moet die monsterstel al die veranderlikes in toekomstige monsters insluit. In die landboubedryf verskil alle monsters gewoonlik van mekaar.

Mobiele handmodel teenoor tafelmodel

Die mobiele handmodel-NIR-spektrometer (**Fig. 2.1a**) word al meer gewild omdat daar voordele is in die gebruik van die instrument (Henn *et al.*, 2016). Die gemak daarvan is dat dit buigsaam is en maklik vervoer kan word en na die monsters geneem kan word wat vinnige onmiddellike resultate kan gee. Handmodelle is baie meer ekonomies as tafelmodelle (**Fig. 2.1b**), nie net omdat dit goedkoper is nie, maar ook omdat dit minder energie gebruik as 'n tafelmodel (Gałaszka *et al.*, 2015). Om hierdie rede begin al meer navorsers die gebruik van so 'n instrument implementeer. Die toestel is klein en eenvoudig om te gebruik wat beteken dat die teenwoordigheid van 'n deskundige onnodig is (Henn *et al.*, 2016). Die handmodel is wel gerieflik, maar het steeds nie die stabiliteit en wye golflengtereeks van 'n tafelmodel nie. Omdat die tafelmodel 'n wyer golflengtereeks gebruik, kan dit moontlik meer inligting van 'n monster gee as 'n handmodel (Christian *et al.*, 2017). 'n Tafelmodel het 'n hoër resolusie as 'n handmodel, maar dit beteken nie dat 'n kalibrasie model minder akkuraat is nie (Herberholz *et al.*, 2010). Daar is konstante tegnologievordering met die maak van spektrofotometers en dit kan wees dat 'n handmodel die plek van 'n tafelmodel in die toekoms kan inneem (Wilkerson *et al.*, 2013; Gałaszka *et al.*, 2015; Henn *et al.*, 2016).

(a)



(b)



Figuur 2.1 (a) MicroNIR OnSite-W (mobiele handmodel NIR spektrometer) (Viavi Solutions Inc, Milpitas, USA) en (b) BÜCHI NIRFlex N-500 (Tafelmodel FT-NIR spektrometer) (NIRSolutions™, Flawil, Switzerland).

Chemometrie

NIR-spektra is baie ryk aan inligting van monsters se fisies-chemiese samestelling asook die verskille tussen monsters, maar dit kan nie met die oog waargeneem word nie (Bokobza, 1998; Manley *et al.*, 2008). Dit is as gevolg van die breë bande wat deur NIR-spektroskopie veroorsaak word wanneer individuele pieke oorvleuel. Met behulp van chemometrie kan hierdie data geïnterpreteer word. Chemometrie is die wetenskap wat wiskunde, statistiek en rekenars gebruik om data van 'n chemiese stelsel te analiseer. Dit werk op so 'n wyse dat dit die nuttige inligting van 'n chemiese stelsel onttrek en ontslae raak van onnodige geraas. Die eerste stap is om die rou data

met voorafbehandelingstegnieke te behandel om defekte in die spektra te verwyder. Daarna kan modelle met meerveranderlike data-analises ontwikkel word.

Voorafbehandelingstegnieke

Voorafbehandeling van die NIR spektra is uiters belangrik, aangesien daar spektrale onderbrekings van die spektrometer self, of chemiese reaksies van die monster kan wees (Payne, 2019). Hierdie tegnieke verwyder defekte wat in die spektra, wat geen chemiese informasie dra nie, kan voorkom. Hierdie is 'n proses wat gebruik word om die data voor te berei vir die volgende stap wat modelontwikkeling is. Algemene voorafbehandelingstegnieke wat die meeste in die literatuur gebruik word is gladstryking (Savitzky & Golay, 1964), afgeleides, veelvuldige-verspreidingskorreksie (MSC) (Geladi *et al.*, 1985), standaard-normale veranderlike (SNV) (Barnes *et al.*, 1989) en tendensverwydering (DT).

Gladstryking word gebruik om die spektrale geraas te verminder (Heise & Winzen, 2006). Die algemeenste vorm van gladstryking is die Savitzky-Golay-metode (Savitzky & Golay, 1964). Afgeleides word gereeld gebruik wanneer daar spektrale geraas voorkom, wat redelik gereeld gebeur (Jha, 2016). Die eerste afgeleide word gebruik vir basislynregstelling en die tweede afgeleide word gebruik vir ligverspreidingregstelling (Savitzky & Golay, 1964).

Ligverspreiding vind dikwels plaas tydens diffusierefleksie en transfleksie wanneer, nie net die geabsorbeerde lig nie, maar ook die verspreide lig waargeneem word deur die detektor (Manley *et al.*, 2008). MSC kan die effek van ligverspreiding verwyder (Geladi *et al.*, 1985). 'n Ander metode is SNV wat gewoonlik saam met DT gebruik word (Barnes *et al.*, 1989). SNV en DT kan ook gebruik word vir die regstelling van basislynverskuiwings wanneer diffusierefleksie gebruik word (Duckworth, 2004).

Soms is daar eksterne invloede wat eksterne parameter-ortogonalisering (EPO) kan verwyder (Roger *et al.*, 2003; Sharma *et al.*, 2014). Die volgende vergelyking verduidelik waaruit die X-matriks bestaan:

$$X = XP + XQ + R \quad (2.1)$$

Waar:

X die matriks is;

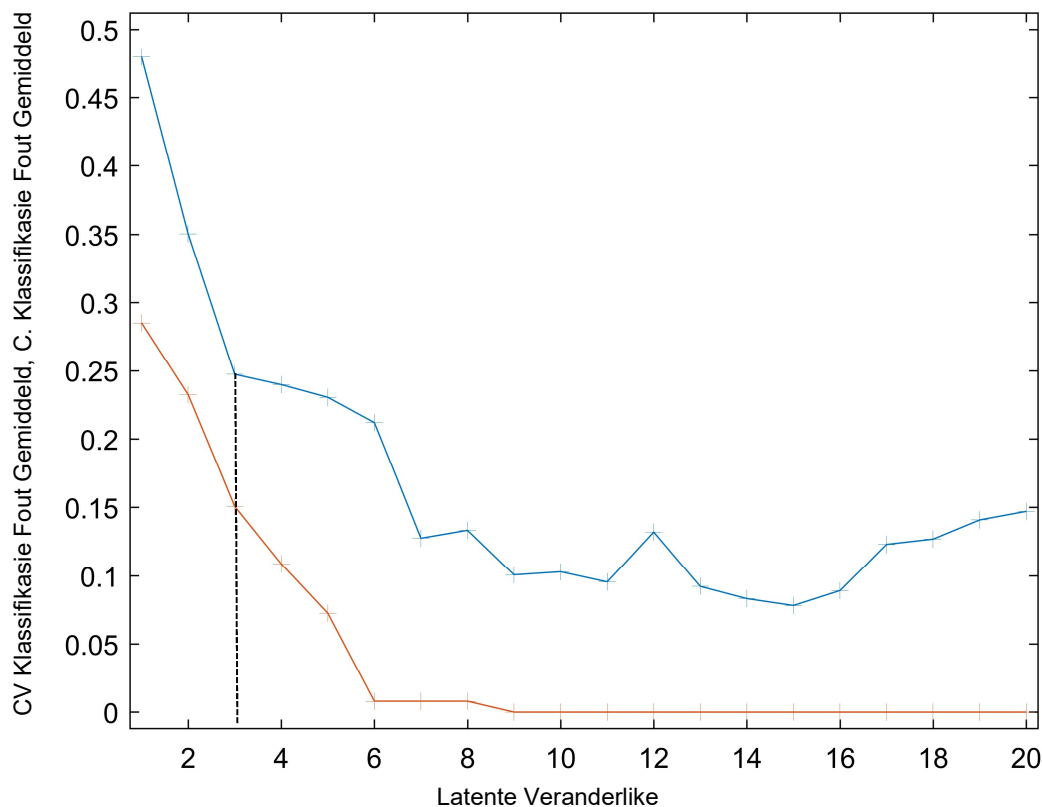
P die projeksie van die komponent van belang is;

Q die projeksie van die eksterne parameter is en

R die residuele matriks is.

Die meeste voorafbehandelingstegnieke gaan te werk om R van die matriks te verwyder. Met EPO word die spektra in twee dele verdeel, naamlik, die nuttige komponent wat 'n direkte verhouding met die reaksieveranderlike, P, het, en die komponent wat van 'n eksterne invloed afkomstig is, naamlik,

Q. Eksterne invloede sal byvoorbeeld in die geval van heuning die volgende insluit: temperatuur-fluktuering van die monster self, verskille in suikerkonsentrasies, die oorsprong van die monster en die oesseisoen. Deur die spektra op die ortogonaal van die spasie te projekteer kan veranderinge plaasvind wat deur eksterne invloede geïnduseer is. Omdat daar verskeie faktore is wat Q kan beïnvloed, is die invloed daarvan nie altyd bekend nie, maar met EPO is dit gelukkig nie nodig om dit te weet om hierdie voorafbehandelingsstegniek uit te voer nie. Om EPO prakties uit te voer kan PCA toegepas word om Q te beraam. Deur PCA te doen kan die hoeveelheid EPO-komponente bepaal word en daarna kan die hoeveelheid latente veranderlikes (LV) bepaal word deur na 'n knelpuntstipping te kyk (**Fig. 2.2**) waar die wortel gemiddelde vierkants fout van kruisbevestiging ($RMSE_{cv}$) die laagste fout met die minste hoeveelheid LV toon. Voordele van EPO is dat die eksterne faktor nie konstant hoef te wees nie, slegs 'n klein monsterstel word benodig en dit kan die kalibrasie van 'n model meer robuus maak.



Figuur 2.2 Knelpuntstipping van $RMSE_{cv}$ (blou) en $RMSEC$ (rooi) teenoor latente veranderlike (LV). Stippellyn (swart) dui kleinste $RMSE_{cv}$ aan met die minste hoeveelheid LV.

Verkennde data-analise

Om die hoeveelheid data in NIR-spektroskopie te verminder, word meerveranderlike kwalitatiewe onbegeleide data-analises soos hoofkomponentanalise (PCA) en groeponthedings (CA) (Cowe & McNicol, 1985) gebruik.

Die datastel word as 'n vingerafdruk van die monster gebruik en nie-geteikende ontledings word dan gebruik om die data te analiseer (Callao & Ruisánchez, 2018). Daar is onbegeleide en begeleide metodes van ontleding. Inligting oor die verhouding tussen die monsters, tussen die veranderlikes of tussen die monsters en die veranderlikes word verkry deur middel van onbegeleide analyses. 'n Onbegeleide analyse word gewoonlik vroeg in die ondersoek gedoen om te sien of daar verskille tussen die monsters is, omdat daar gewoonlik geen inligting oor klasse bekend is nie (Manley, 2014). Moontlike uitskieters kan opgespoor word met dié vorm van analyse. Die mees algemene vorm van 'n onbegeleide verkennende tegniek is PCA. PCA werk met die maksimum inligting van die oorspronklike datastel om hoofkomponente (PC) te maak wat dan hierdie PC op 'n driedimensionele grafiek op 'n rekenaar plot. Die eerste PC is die veranderlike met die meeste datavariasie, die tweede PC dra die veranderlike met die tweede meeste datavariasie en so meer. Deur na PCA-grafiek te kyk, kan 'n veranderlike verspreiding waargeneem word. Die resultate van PCA word dikwels gebruik om verdere analyses te lei (Szymańska *et al.*, 2015).

CA is nog 'n onbegeleide metode van analyse en komplementeer die PCA (Callao & Ruisánchez, 2018). Groepe word gevorm wanneer monsters of veranderlikes ooreenkomste het en saam groepeer. Deur na groepe te kyk, kan mens uitskieters waarneem en dit uit die datastel verwyder (Szymańska *et al.*, 2015). Die verwydering van die uitskieters is van belang omdat dit 'n negatiewe uitwerking op die begeleide analyse kan hê.

Na onbegeleide analyses volg meer in diepte ondersoek deur middel van meerveranderlike data-analises wat gebruik word om modelle te bou.

Meerveranderlike data-analises

Wanneer begeleide analyses toegepas word, is daar gewoonlik meer inligting rakende die monsterklasse bekend. Begeleide analyses is meerveranderlike data-analises wat in kwantitatiewe en kwalitatiewe analyses verdeel kan word (Heise & Winzen, 2006).

'n Kwantitatiewe analyse is 'n regressietegniek en ontbloomt hoeveelhede van eienskappe in 'n monster of voorspel eienskappe in 'n onbekende monster. Die mees algemene regressiemodelle is partiële kleinste kwadrate(PLS)regressie (Wold *et al.*, 1984) en hoofkomponentregressie (PCR) (Næs & Martens, 1988).

Met 'n kwalitatiewe analyse kyk mens gewoonlik na die spektra self vir interpretasie, maar dit is nie moontlik met NIR-spektroskopie nie, aangesien dit uit breë bande en oorvleuelende pieke bestaan. 'n Kwalitatiewe analyse word vir klassifikasie gebruik en (Heise & Winzen, 2006) ontledings metodes sluit in: sagte onafhanklike modellering van klas-analogie (SIMCA) (Wold & Sjöström, 1977); partiële kleinste kwadratediskriminantanalise (PLS-DA) (Barker & Rayens, 2003) en lineêre diskriminantanalise (LDA) (Ye *et al.*, 1980).

SIMCA klassifiseer monsters gebaseer op ooreenkomste met behulp van 'n hoofkomponentmodel (Marini *et al.*, 2006; Bevilacqua *et al.*, 2013). As die monster by die model pas, word dit deur 'n spesifieke kategorie aanvaar, andersins behoort dit nie tot daardie spesifieke kategorie nie. Kategorieë word geskep deur die monsterruimte te verdeel in die vasgestelde hoeveelheid klasse wat ondersoek word. 'n Monster word toegeken aan 'n klas wanneer dit in 'n spesifieke streek van daardie ruimte wat aan 'n klas verbind is, val.

LDA hou die variansie in die klasse tot 'n minimum, maar maksimeer die variansie tussen die klasse met berekeninge (Sendin *et al.*, 2018). LDA word gebruik vir klassifikasie en klassifiseer deur die afstand na die middel van 'n klas te bereken en aan die naaste klas toe te ken. LDA het soms kolineariteitsprobleme, maar PLS-DA kan hierdie probleem oorkom. PLS-DA werk anders in die sin dat dit 'n drempelwaarde het tussen die gemiddelde spektra van die verskillende klasse. Monsters wat bo of onder die geselekteerde drempel val, wat gewoonlik 0.5 is, sal as een van die klasse geklassifiseer word.

TOEPASSING VAN NIR-SPEKTROSKOPIE IN HEUNING

Toepassings van NIR-spektroskopie word in **Tabel 2.5** opgesom. Dit is in geografiese, botaniese, vervalsing en fisies-chemiese analise en bepaling van die di- en tri-sakkariëde verdeel.

Botanies

Vier studies is gedoen om die botaniese oorsprong van heuning te bepaal (Chen *et al.*, 2012; Escuredo *et al.*, 2015; Tahir *et al.*, 2016; Bisutti *et al.*, 2019) (**Tabel 2.5**). Dit word verkies dat 'n monsterstel so groot as moontlik is wanneer 'n model gebou word, sodat die spektra 'n maksimum variasie van alle moontlike toekomstige monsters bevat (Williams, 2008). Chen *et al.* (2012) het die grootste monsterstel van 250 gebruik, Tahir *et al.* (2016) het 150 monsters gebruik en Escuredo *et al.* (2015) het slegs 60 monsters gebruik. Al is daar 'n kleiner monsterstel in Escuredo *et al.* (2015) se studie gebruik, het hul dit steeds reggekry om die bloemoorsprong van heuning te kwantifiseer. Die metode wat gebruik is om die model te bou, was aangepaste parsiele kleinste kwadrateregressie (MPLS). Dit is soos PLS, maar dikwels meer akkuraat en stabiel. Die model het vir elk van die vier botaniese oorspronge, 'n standaardfout van voorspelling (SEP) wat wissel tussen 0.62% en 11.69% behaal (R^2 van tussen 0.778 en 0.971). Hierdie is 'n redelike groot reeks van SEP wat moontlik as gevolg van die klein monsterstel wat gebruik is, kan wees. Tahir *et al.* (2016) se studie het die antioksidanteienskappe met chemiese metodes bepaal en as verwysingswaardes gebruik om modelle met die minste vierkante-ondersteun vektormasjien (LS-SVM) en LDA te bou. Die LDA-model het 100% kalibrasie- en voorspellingsakkuraatheid behaal.

In 'n meer onlangse studie was die doel ook om die botaniese oorsprong te bepaal, maar in dié geval was die gebruik van die PLS-DA-model ongelukkig onsuksesvol (Bisutti *et al.*, 2019). 'n Sensitiwiteit van 49% is gekry en dit beteken die model is sensitief genoeg om die ware positiewe

reaksies elke keer korrek as positief te klassifiseer (Payne, 2019). Dit bewys die doeltreffendheid van die model. Met hierdie lae persentasie wat behaal is, is masjienleertegnieke toegepas om 'n werkende model te kry. Daar was 'n groot wanbalans in die grootte van die klasse. Twee klasse het groot monsterstelle gehad (29 en 65) terwyl die ander twee kleiner klasse (18 en 7) gehad het. Die gevolgtrekking was gemaak dat dit die rede kon wees vir die onsuksesvolle PLS-DA-modelle.

Die tekortkominge by al vier hierdie studies is dat hulle nie die totale oplosbare vaste stowwe (TSS) aangepas het nie. Verskillende suikerkonsentrasies kan die spektrale data beïnvloed, aangesien lig in wisselwerking is met verskillende deeltjiegroottes (Workman Jr., 2004). Heuning het oor die algemeen 'n °Brix-waarde van tussen 76 en 85°Brix (Oroian & Sorina, 2017). Omdat dit so verskil, is die aanbeveling om die °Brix-waarde tot by 70°Brix aan te pas om hierdie variasie uit te skakel.

Tabel 2.5 Gebruike van NIR-spektroskopie op heuning.

Toepassing	Spektrometer Spektrum skandering Resolusie of intervale	Golflengtereeks en Metode	Chemometrie en resultate	N	Monster voorbereiding	Verwysing
Botanies						
1	FT-NIR 32 skanderings	800 – 2500 nm (12000 - 4000 cm ⁻¹) Wyse: diffusierefleksie	MD-DA C _{CC} : 87.4%, P _{CC} : 85.3% BP-ANN C _{CC} : 90.9%, P _{CC} : 89.3%	250	Waterbad (40°C)	(Chen <i>et al.</i> , 2012)
2	FossNIR 32 skanderings Resolusie: 2 nm	1100 – 2498 nm Wyse: transfleksie	MPLS <u>SEP</u> : <i>Castanea</i> : 9.43%, <i>Eukaliptus</i> : 11.69%, <i>Rubus</i> : 9.68%, <i>Erica</i> : 0.62% <u>R²</u> : <i>Castanea</i> : 0.805, <i>Eukaliptus</i> : 0.846, <i>Rubus</i> : 0.778, <i>Erica</i> : 0.971	60	Verhit (40°C)	(Escuredo <i>et al.</i> , 2015)
3	Antaris II NIR 32 skanderings Interval: 0.964 cm ⁻¹	1000 – 2500 nm (10 000 – 4000 cm ⁻¹) Wyse: refleksie	LS-SVM Kalibrasie-akkuraatheid: 99.05%, Voorspellingsakkuraatheid: 93.33% LDA Kalibrasie-akkuraatheid: 100%, Voorspellingsakkuraatheid: 100%	150	Verhit (40°C)	(Tahir <i>et al.</i> , 2016)
4	FossNIR Interval: 0.5 mm	850 – 2500 nm Wyse: transfleksie	PLS-DA Sen _p : 49%, Spes _p : 88.25%	119	Homogeniseer	(Bisutti <i>et al.</i> , 2019)

Geografies						
Toepassing	Spektrometer Spektrum skandering Resolusie of intervale	Golflengtereeks en Metode	Chemometrie en resultate	N	Monster voorbereiding	Verwysing
1	NIR 6500	1100 – 2496 nm Wyse: transfleksie	SIMCA <u>CC_p</u> : Ierland: 90.1%, Meksiko: 94.4%, Spanje: 92% PLS-DA <u>CC_p</u> : 100% vir alle lande	292	Inkubeer (40°C) Brix aangepas (70°Brix)	(Woodcock <i>et al.</i> , 2007)
2	NIR 6500 32 skanderings Resolusie: 2 nm	1100-2500 nm (4000-9000 cm ⁻¹) Wyse: refleksie	PLS-DA Sen _p : 80%, Spes _p :93.3% SIMCA Sen _p : 93.3%, Spes _p : 100% KNN Sen _p : 100%, Spes _p : 86.6% MLF-NN Sen _p : 100%, Spes _p : 93.3%	30	-	(Latorre <i>et al.</i> , 2013)
Vervalsing						
1	FossNIR 6500 32 skanderings	1100-2500 nm Wyse: transfleksie	PLS RMSE _{cv} : < 1.5%	40	Vervals met HFMS	(Bázár <i>et al.</i> , 2016)
2	FT-NIR 32 skanderings Interval: 3.856 cm ⁻¹	1000 – 2500 nm (10 000 – 4000 cm ⁻¹) Wyse: transfleksie	Klassifikasie-akkuraatheid: PLS-LDA (1): 82.4%, (2): 90.2% CARS-PLS-LDA (1): 86.3%, (2): 96.1%	102	Waterbad (55°C) Brix aangepas (65°Brix). Vervals met HFMS en MS	(Li <i>et al.</i> , 2017a)

Toepassing	Spektrometer Spektrum skandering Resolusie of intervale	Golflengtereeks en Metode	Chemometrie en resultate	N	Monster voorbereiding	Verwysing
3	Antaris II NIR 32 skanderings Interval: 3.856 cm ⁻¹	1000 - 2500 nm (10 000 – 4000 cm ⁻¹) Wyse: transfleksie	Totale akkuraatheid: LS-SVM 95.1%, SVM 85.4%, BP-ANN 90.2%, KNN 85.4%, LDA 82.9%	68	Inkubeer (55°C) Brix aangepas (70°Brix). Vervals (fruktose:glukose- oplossing)	(Zhu <i>et al.</i> , 2010)
4	FossNIR 16 skanderings	1100 – 2498 nm Wyse: transfleksie	SIMCA Minste akkuraat KNN Lae vals negatiewes en laer vals positiewes PLS Akkuraatste model	275	Inkubeer (40°C) Brix aangepas (70°Brix). Vervals (glukose:fruktose- oplossing)	(Downey <i>et al.</i> , 2004)
5	BÜCHI NIRFlex 32 skanderings Resolusie: 8 cm ⁻¹ Interval: 0.4 nm JDSU MicroNIR 64 skanderings Resolusie: 30 x 250 µm/50 µm Interval: 6.2 nm	1000-2500 nm Wyse: transmissie 908 – 1680 nm Wyse: refleksie	PLS-DA <u>Totale</u> C: 96.2%, CV: 96.2%, P: 96.9% PLS-DA <u>Totale</u> C: 93.3%, CV: 87.5%, P: 93.7%	116	Inkubeer (55°C) Brix aangepas (70°Brix). Vervals (fruktose:glukose- oplossing) / (ingevoerde heuning)	(Guelpa <i>et al.</i> , 2017)

Toepassing	Spektrometer Spektrum skandering Resolusie of intervale	Golflengtereeks en Metode	Chemometrie en resultate	N	Monster voorbereiding	Verwysing
	OceanOptics NIRQuest 64 skanderings Interval: 6 nm	860 – 2500 nm Wyse: refleksie	PLS-DA <u>Totale</u> C: 99.0%, CV: 94.2%, P: 87.5%			
Fisies-chemise analise en bepaling van di- en tri-sakkariede						
1 Meting van antioksidante	FossNIR 32 skanderings Resolusie: 2 nm	1100 – 2498 nm Wyse: transfleksie	MPLS RMSEP (mg/100 g) Fenol: 55.86 Flavonoïde: 2.02 Vitamien C: 1.27 IC ₅₀ : 10.70 Oksidasie indeks: 5.36 Cu: 0.38	60	Verhit (40°C)	(Escuredo <i>et al.</i> , 2013)
2 Dehidrasie- proses	SupNIR-1100 9 skanderings	600 – 1100 nm Wyse: transmissie	2D-NIR kan die kleinste veranderinge in die heuning as 'n vingerafdrukverskil waarneem	12	Waterbad (55°C)	(Chen <i>et al.</i> , 2014)
3 Heuning van verskillende byspesies	MicroNIR 1700 JDSU Resolusie: 6 nm	900 – 1700 nm Wyse: diffusierefleksie	PCA	29	-	(Leme <i>et al.</i> , 2018)

BP-ANN (terug-propagasie-kunsmatige neurale netwerk); C (kalibrasie); CARS-PLS-LDA (kompeterende aanpasbare oorgeweegde steekproefversameling-parsiële kleinste kwadrate-lineêre diskriminantanalise); CC (korrekte klassifikasie); CV (kruisbevestiging); KNN (K-naaste bure); LDA (lineêre diskriminantanalise); LS-SVM (minste vierkante-ondersteun vektormasjien); MD-DA (Mahalanobis afstand-diskriminantanalise); MLF-NN (meervoudige lae vorentoe-voerende neurale netwerk); MPLS (aangepaste parsiële kleinste kwadrate); N (aantal monsters); P (Voorspelling); PCA (hoofkomponent analise); PLS (parsieële kleinste kwadrate); PLS-DA (parsieële kleinste kwadrate-diskriminantanalise); PLS-LDA (parsieële kleinste kwadrate-lineêre diskriminantanalise); RMSE (wortel gemiddelde vierkants fout); Sen (Sensitiwiteit); SEP (standaardfout van voorspelling); SIMCA (sagte onafhanklike modelleerwerk van klasanalogie); Spes (Spesifisiteit); SVM (ondersteun vektormasjien)

Geografies

Geografiese oorsprong word nie net deur die produsente- en regulatoriese liggame vereis nie, maar ook deur verbruikers omdat verbruikers meer bewus word van waar hul voedsel vandaan kom (Latorre *et al.*, 2013). Die Europese Unie (EU) het al jare lank prosedures om sekere kosse met spesifieke geografiese oorsprong te erken (European Commission, 2013). Hierdie prosedures het etikette wat as volg toegeken word: Beskernde Geografiese Aanduiding (BGA), Beskernde Oorsprongbeskrywing (BOB) en Tradisionele Spesialiteit Gewaarborg (TSG). BGA is vir voedsel en landbouprodukte wat gedurende ten minste een stadium van produksie gekoppel is aan 'n geografiese gebied. BOB is vir voedsel en landbouprodukte wat tydens elke stap in die produksie verband hou met 'n geografiese gebied. Laastens is TSG vir voedsel en landbouprodukte wat tradisionele grondstowwe bevat of deur tradisionele produksiemetodes is of 'n tradisionele chemiese samestelling het wat nie met die geografiese oorsprong van die produk verband hou nie. Suid-Afrika het egter geen vorm van geografiese beskerming vir die heuningbedryf nie. Hierdie beskermende etikette dien nie net om aan te dui waar 'n sekere produk vandaan kom nie, maar word ook geassosieer met 'n sekere kwaliteit. Die kwaliteit van 'n produk is baie keer afhanklik van die oorsprong en met tyd kan dit 'n waardevolle reputasie ophou. Dus is dit belangrik om hierdie produkte te beskerm anders kan oneerlike maatskappye dit verkeerd verteenwoordig.

NIR-spektroskopie is in twee studies gebruik om die geografiese oorsprong van heuning te bepaal (Woodcock *et al.*, 2007; Latorre *et al.*, 2013). Woodcock *et al.* (2007) het SIMCA en PLS-DA gebruik vir klassifikasie van heuning vanaf Ierland, Meksiko en Spanje met verskillende kombinasies van voorafbehandelings tegnieke. Die PLS-DA-model het 'n 100% klassifikasie-akkuraatheid vir al die klasse behaal en is dus van 'n hoër gehalte as dié van SIMCA. Beide Woodcock *et al.* (2007) en Latorre *et al.* (2013) het gebruik gemaak van 'n NIR-6500-spektrofotometer en die PLS-DA en SIMCA-algoritmes. 'n Verskil in hul studies is dat Woodcock *et al.* (2007) transfleksie gebruik het en ook die meeste aantal monsters (292 teenoor 30 monsters) gebruik het vir die bou van die modelle. Vier modelle is ontwikkel deur Latorre *et al.* (2013), anders as die PLS-DA en SIMCA wat beide navorsers gebruik het, is K-naaste bure (KNN) en 'n meervoudige lae vorentoe-voerende neurale netwerk (MLF-NN) ook ontwikkel. Dit is egter bevind dat SIMCA die beste model met 'n spesifisiteit van 100% lewer wat 'n aanduiding is van geen vals positiewes (Kumar & Sharma, 2018).

Die aantal monsters is 'n belangrike faktor wat in ag geneem moet word. Indien daar te min monsters is, kan 'n model as baie goed voorkom omdat daar moontlik nie veel variasie tussen die monsters is nie, maar wanneer die monsterstel vergroot word, word daar meer variasie ingesluit. Baie groot monsterstelle met monsters wat dieselfde tipe variasies toon bou gewoonlik dus beter modelle (Kawano, 2006). Daar is ook geen monstervoorbereiding by Latorre *et al.*, (2013) se studie gedoen nie en die variasie in voginhoud en TSS tussen die monsters kan die spektra beïnvloed

(Kawano, 2006). Oor die algemeen dui die bogenoemde aan dat NIR-spektroskopie gebruik kan word om die geografiese oorsprong van die heuning te bepaal.

Vervalsing

Vervalsing van heuning is 'n groot probleem regoor die wêreld en vele studies is al gedoen om dit met die hulp van NIR-spektroskopie tesame met chemometrie op te spoor (Downey *et al.*, 2004; Zhu *et al.*, 2010; Bázár *et al.*, 2016; Guelpa *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2017a). Guelpa *et al.* (2017) het drie verskillende instrumente gebruik en vergelyk. Die monsters is in twee groepe verdeel. Die een groep monsters is met 'n fruktose:glukose-kombinasie en die ander groep met ingevoerde heuning vervals. Die beste resultate is verkry met die BÜCHI NIRFlex-spektrometer wat in transmissie gebruik is op 'n golflengtereeks van 1000 tot 2500 nm. Die vervalste en egte heuningmonsters is geskandeer, en 'n PLS-DA-model is gebou en 'n kalibrasie en kruisbevestiging (CV) van 100% is behaal. Die OceanOptica NIRQuest-mobiele instrument is gebruik in die golflengtereeks van 860 tot 2500 nm in refleksie. Die resultate was nie so akkuraat soos die BÜCHI-instrument nie, maar het wel uitstekende resultate opgelewer met 'n kalibrasie-akkuraatheid van 99% en CV-akkuraatheid van 94.2%. 'n Foss NIR-spektrometer is met transfleksie gebruik by 'n golflengtereeks van 1000 tot 2500 nm (Bázár *et al.*, 2016). 'n RMSE_{cv} van minder as 1.5% is bereik wat wys daar is potensiaal om vervalsing op te spoor.

'n Vroeëre studie het van drie verskillende klassifikasie metodes gebruik gemaak (Downey *et al.*, 2004). SIMCA het die minste akkurate resultate gegee, 42.66% egte monsters en 28% vervalste monsters is korrek geklassifiseer. KNN het 69.33% egte monsters en 96% vervalste monsters korrek geklassifiseer, maar partiële kleinste kwadrate (PLS) was egter die akkuraatste model wat 94.66% egte monsters en 99.11% vervalste monsters korrek geklassifiseer het. By 'n meer onlangse studie is PLS-DA en kompeterende aanpasbare oorgeweegde steekproefversameling-partiële kleinste kwadrate-lineêre diskriminantanalise (CARS-PLS-LDA) gebruik vir die bou van modelle, en CARS-PLS-LDA het beter resultate behaal met 'n klassifikasie-akkuraatheid van 86.3% vir die eerste stel en 96.1% vir die tweede stel (Li *et al.*, 2017a). Ander klassifikasie metodes is ook gebruik in ander studies wat ondersteun vektor masjien (SVM), terug-propagasie-kunsmatige neurale netwerk (BP-ANN), KNN en LDA insluit en het klassifikasie akkuraatheid vir al die algoritmes bo 80% behaal. (Zhu *et al.*, 2010).

Heuning moet nie tot te hoë temperature verhit word nie, en dit moet ook by die korrekte temperature geberg word anders veroorsaak dit chemiese veranderinge in die heuning wat die spektra kan beïnvloed (Townsend, 1976). Li *et al.* (2017) en Zhu *et al.* (2010) en Guelpa *et al.* (2017) het hul monsters tot by 55°C verhit wat die monsters chemiese verandering kon laat ondergaan het. Die minste chemiese veranderinge vind plaas by temperature onder 5°C (Townsend, 1976; Jiménez *et al.*, 1994) en Guelpa *et al.* (2017) se monsters is by kamertemperatuur geberg oor 'n tydperk van 2009 tot 2013. Die temperatuur waarby die monsters geskandeer word, beïnvloed ook die spektra

(Norris, 2009). By 'n vroeëre studie is dit nie konstant gehou nie en kon moontlik meer akkurate spektra verkry geword het indien die temperatuur nie gefluktueer het nie (Downey *et al.*, 2004). Bázár *et al.* (2016) het heuningmonsters met hoëfruktosemieliestroop (HFMS) vervals, maar die voorbereiding van die monsters is nie gestandaardiseer nie. Die monsters is lukraak met HFMS verdun. Vir 'n beter studie moet die TSS voor die vervalsing aangepas word. In ander studies is die TSS gestandaardiseer en aangepas met gedistilleerde water na 70°Brix wat dus daardie variasie uitsluit (Downey *et al.*, 2004; Zhu *et al.*, 2010; Guelpa *et al.*, 2017).

Fisies-chemiese analise en bepaling van die di- en tri-sakkariede

Daar is ander studies op heuning gedoen met die gebruik van NIR-spektroskopie tesame met chemometrie. Antioksidante is gekwantifiseer deur Escuredo *et al.* (2013). Daar is bevind dat die resultate bevredigend is, maar dat daar wel verdere navorsing gedoen moet word om beter modelle wat meer robuus is te bou.

Heuning wat van 'n hoë humiditeitarea soos Sjina kom, het oor die algemeen 'n hoër voginhoud wat nie aan die vereistes voldoen nie (Codex Alimentarius Commission, 2001; Chen *et al.*, 2014a). Die heuning is dan veronderstel om 'n addisionele dehidrasie proses te ondergaan. Dit gebeur nie altyd nie wat dan die verbruikers blootstel aan 'n onbevredigende produk. Chen *et al.* (2014) het dus die dehidrasieproses van heuning gevolg omdat daar nie veel navorsing daarvoor was nie. Laastens kon daar onderskeid getref word tussen heuning van twee verskillende bysoorte deur slegs 'n PCA te doen nadat voorafbehandelings tegnieke toegepas is (Leme *et al.*, 2018).

GEVOLGTREKKING

Heuning is goed oor die wêreld versprei. Daarom is dit belangrik om aandag te skenk aan hierdie bedryf. Die metode wat beskikbaar is (palinologie op heuning), is baie moeilik en tydrowend. NIR-spektroskopie het die potensiaal om vir kwalitatiewe en kwantatiewe analises van heuning gebruik te word gebaseer op vorige navorsing. NIR-spektroskopie gee nie eiesoortige pieke in die spektra nie, maar eerder breë bande en oorvleuelende pieke. Dus word chemometrie gebruik om belangrike inligting uit die spektra te onttrek waar SIMCA, PLS en PLS-DA baie wydgebruikte tegnieke is vir die bou van modelle op heuning.

NIR-spektroskopie gee vinnige resultate en alhoewel die instrumente in die laboratorium gebruik word, is daar klein mobiele handtoestelle wat in die veld of binne 'n fabriek geneem kan word vir 'n vinnige analise sonder om die monster na 'n laboratorium te neem. Alhoewel vorige studies bewys dat hierdie metode wel gebruik kan word om die botaniese en geografiese oorsprong van heuning te bepaal is daar tog steeds 'n gaping in die navorsing. Daar is slegs een studie oor Suid-Afrikaanse heuning, maar die monsters was nie korrek geberg voor analise nie. Vir die meeste van die studies is die monsters met hoë temperature behandel wat chemiese veranderinge in die heuning kon veroorsaak het.

Verdere navorsing moet gedoen word oor Suid-Afrikaanse heuning, aangesien lande se heuning van mekaar verskil. Meer klem moet gelê word op die monster voorbereiding en hantering van die heuning. Die monsters moet ook nie met hoë temperature behandel word nie en betroubare monsters moet ingesamel word om te verseker dat dit geen vorige prosessering ondergaan het nie. Die meerderheid van die studies is gedoen met laboratorium instrumente, dus moet daar meer navorsing gedoen word ten opsigte van mobiele handmodeltoestelle wat in die industrie sowel as 'n op-perseel gebruik kan word.

VERWYSINGS

- Anklam, E. (1998). A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, **63**, 549–562.
- Barker, M. & Rayens, W. (2003). Partial least squares for discrimination. *Journal of Chemometrics*, **17**, 166–173.
- Barnes, R.J., Dhanoa, M.S. & Lister, S.J. (1989). Standard normal variate transformation and detrending of near-infrared diffuse reflectance spectra. *Applied Spectroscopy*, **43**, 772–777.
- Bázár, G., Romvári, R., Szabó, A., Somogyi, T., Éles, V. & Tsenkova, R. (2016). NIR detection of honey adulteration reveals differences in water spectral pattern. *Food Chemistry*, **194**, 873–880.
- Bevilacqua, M., Bucci, R., Magrì, A.D., Magrì, A.L., Nescatelli, R. & Marini, F. (2013). Classification and class-modelling. In: *Data Handling in Science and Technology* (edited by F. Marini). Pp. 171–233.
- Bisutti, V., Merlanti, R., Serva, L., Lucatello, L., Mirisola, M., Balzan, S., Tenti, S., Fontana, F., Trevisan, G., Montanucci, L., Contiero, B., Segato, S. & Capolongo, F. (2019). Multivariate and machine learning approaches for honey botanical origin authentication using near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, **27**, 65–74.
- Bokobza, L. (1998). Near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, **6**, 3–17.
- Büning-Pfaue, H. (2003). Analysis of water in food by near infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, **82**, 107–115.
- Callao, M.P. & Ruisánchez, I. (2018). An overview of multivariate qualitative methods for food fraud detection. *Food Control*, **86**, 283–293.
- Chen, G., Sun, X., Huang, Y. & Chen, K. (2014). Tracking the dehydration process of raw honey by synchronous two-dimensional near infrared correlation spectroscopy. *Journal of Molecular Structure*, **1076**, 42–48.
- Chen, L., Wang, J., Ye, Z., Zhao, J., Xue, X., Heyden, Y. Vander & Sun, Q. (2012). Classification of Chinese honeys according to their floral origin by near infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, **135**, 338–342.
- Christian, S., Huck, W., Kirchler, C.G., Pezzei, C.K., Be, B. & Mayr, S. (2017). Critical evaluation of spectral information of benchtop vs. portable near-infrared spectrometers: quantum chemistry

- and two- dimensional correlation spectroscopy for a better understanding of PLS regression models of the rosmarinic acid content in Rosmari. *Analyst*, **142**, 455–464.
- Codex Alimentarius Commission. (2001). *Standard for Honey. Codex stan 12-1981*.
- Cowe, I.A. & McNicol, J.W. (1985). Use of principal components in the analysis of near-infrared spectra. *Applied Spectroscopy*, **39**, 257–266.
- Crane, E. (1976). The flowers honey comes from. In: *Honey: A Comprehensive Survey* (edited by E. Crane). Pp. 3–76. London, England: William Heinemann Ltd.
- Department of Agriculture. (2000). Regulations relating to the grading, packing and marking of honey and mixtures of bee products intended for sale in the Republic of South Africa. In: *Agricultural Product Standards Act (Act No. 119 of 1990)*.
- Divched, W.J. (2007). The chemical composition of honey. *Journal of Chemical Education*, **84**, 1643–1646.
- Dong, H., Xiao, K., Xian, Y. & Wu, Y. (2018). Authenticity determination of honeys with non-extractable proteins by means of elemental analyzer (EA) and liquid chromatography (LC) coupled to isotope ratio mass spectroscopy (IRMS). *Food Chemistry*, **240**, 717–724.
- Downey, G., Fouratier, V. & Kelly, J. (2004). Detection of honey adulteration by addition of fructose and glucose using near-infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, **11**, 447–456.
- Duckworth, J. (2004). Mathematical data preprocessing. In: *Near-Infrared Spectroscopy in Agriculture* (edited by C.A. Roberts, J. Workman Jr. & J.B. Reeves III). Pp. 115–132. Madison, USA: American Society of Agronomy, Crop Science of America, Soil Science of America.
- Dyer, D.J. (2004). Analysis of oilseeds and coarse grains. In: *Near-Infrared Spectroscopy in Agriculture* (edited by L. Al-Amoodi). Pp. 321–344. Wisconsin, USA: American Society of Agronomy, Crop Science of America, Soil Science of America.
- Escuredo, O., González-Martín, M.I., Rodríguez-Flores, M.S. & Seijo, M.C. (2015). Near infrared spectroscopy applied to the rapid prediction of the floral origin and mineral content of honeys. *Food Chemistry*, **170**, 47–54.
- Escuredo, O., Seijo, M.C., Salvador, J. & González-Martín, M.I. (2013). Near infrared spectroscopy for prediction of antioxidant compounds in the honey. *Food Chemistry*, **141**, 3409–3414.
- European Commission. (2013). Agriculture and rural development, geographical indications and traditional specialties [Internet document] URL https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/food-safety-and-quality/certification/quality-labels/quality-schemes-explained_en. Accessed 27/08/2019.
- Francis, C. & Gontier, F. (1982). Honey as medicine and cosmetics. In: *The Book of Honey*. Pp. 26–29. Cape Town, South Africa: Howard Timmins Ltd.
- Gałaszka, A., Migaszewski, Z.M. & Namieśnik, J. (2015). Moving your laboratories to the field – Advantages and limitations of the use of field portable instruments in environmental sample analysis. *Environmental Research*, **140**, 593–603.

- Geladi, P., MacDougall, D. & Martens, H. (1985). Correction for near-infrared reflectance spectra of meat. *Applied Spectroscopy*, **39**, 491–500.
- Genisheva, Z., Quintelas, C., Mesquita, D.P., Ferreira, E.C., Oliveira, J.M. & Amaral, A.L. (2018). New PLS analysis approach to wine volatile compounds characterization by near infrared spectroscopy (NIR). *Food Chemistry*, **246**, 172–178.
- Giraud, A., Grassi, S., Savorani, F., Gavoci, G., Casiraghi, E. & Geobaldo, F. (2019). Determination of the geographical origin of green coffee beans using NIR spectroscopy and multivariate data analysis. *Food Control*, **99**, 137–145.
- Guelpa, A., Marini, F., Plessis, A. du, Slabbert, R. & , Marena, M. (2017). Verification of authenticity and fraud detection in South African honey using NIR spectroscopy. *Food Control*, **73**, 1388–1396.
- Heise, H.M. & Winzen, R. (2006). Fundamental chemometric methods. In: *Near-Infrared Spectroscopy* (edited by H.W. Siesler, Y. Ozaki, S. Kawata & H.M. Heise). Pp. 125–162. Weinheim, Germany: Wiley-VCH.
- Henn, R., Schwab, A. & Huck, C.W. (2016). Evaluation of benchtop versus portable near-infrared spectroscopic method combined with multivariate approaches for the fast and simultaneous quantitative analysis of main sugars in syrup formulations. *Food Control*, **68**, 97–104.
- Herberholz, L., Kolomiets, O. & Siesler, H.W. (2010). Quantitative analysis by a portable near infrared spectrometer: can it replace laboratory instrumentation for in situ analysis? *NIR news*, **21**, 6–8.
- Hutton-Squire, J.P. (2014). *Historical relationship of the honeybee (apis mellifera) and its forage; and the current state of beekeeping within South Africa*. [Masters Thesis] South Africa: Stellenbosch University.
- Jha, S.N. (2016). Spectroscopy and chemometrics. In: *Rapid Detection of Food Adulterants and Contaminants* (edited by K.R. Miller). Pp. 147–214. San Diego: Academic Press Publications.
- Jiménez, M., Mateo, J.J., Huerta, T. & Mateo, R. (1994). Influence of the storage conditions on some physicochemical and mycological parameters of honey. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **64**, 67–74.
- Jones, R., Settele, J., Dean, R., Brown, M.A., Potts, S.G., Neumann, P., Roberts, S.P.M. & Marris, G. (2010). Declines of managed honey bees and beekeepers in Europe. *Journal of Apicultural Research*, **49**, 15–22.
- Kawano, S. (2006). Sampling and sample presentation. In: *Near-Infrared Spectroscopy* (edited by H.W. Siesler, Y. Ozaki, S. Kawata & H.M. Heise). Pp. 115–124. Weinheim, Germany: Wiley-VCH.
- Khan, F., Hill, J., Kaehler, S., Allsopp, M. & Vuuren, S. van. (2014). Antimicrobial properties and isotope investigations of South African honey. *Journal of Applied Microbiology*, **117**, 366–379.
- Krepper, G., Romeo, F., Fernandes, D.D. de S., Diniz, P.H.G.D., Araújo, M.C.U. de, Nezio, M.S. Di, Pistonesi, M.F. & Centurión, M.E. (2018). Determination of fat content in chicken hamburgers

- using NIR spectroscopy and the Successive Projections Algorithm for interval selection in PLS regression (iSPA-PLS). *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **189**, 300–306.
- Kumar, R. & Sharma, V. (2018). Chemometrics in forensic science. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, **105**, 191–201.
- Latorre, C.H., Crecente, R.M.P., Martín, S.G. & García, J.B. (2013). A fast chemometric procedure based on NIR data for authentication of honey with protected geographical indication. *Food Chemistry*, **141**, 3559–3565.
- Leme, L.M., Rocha Montenegro, H., Rocha dos Santos, L. da, Sereia, M.J., Valderrama, P. & Março, P.H. (2018). Relation between near-infrared spectroscopy and physicochemical parameters for discrimination of honey samples from jatai weyrauchi and jatai angustula bees. *Food Analytical Methods*, **11**, 1944–1950.
- León-Ruiz, V., Vera, S., González-Porto, A. V. & Andrés, M.P.S. (2011). Vitamin C and sugar levels as simple markers for discriminating spanish honey sources. *Journal of Food Science*, **76**, C356–C361.
- León-Ruiz, V., Vera, S., González-Porto, A. V. & San Andrés, M.P. (2013). Analysis of water-soluble vitamins in honey by isocratic RP-HPLC. *Food Analytical Methods*, **6**, 488–496.
- Li, S., Zhang, X., Shan, Y., Su, D., Ma, Q., Wen, R. & Li, J. (2017). Qualitative and quantitative detection of honey adulterated with high-fructose corn syrup and maltose syrup by using near-infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, **218**, 231–236.
- Lin, M., Rasco, B.A., Cavinato, A.G. & Al-Holy, M. (2009). Infrared (IR) spectroscopy—near-infrared spectroscopy and mid-infrared spectroscopy. In: *Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control* (edited by D.-W. Sun). Pp. 119–143. Burlington, USA: Elsevier Inc.
- López-Maestresalas, A., Insausti, K., Jarén, C., Pérez-Roncal, C., Urrutia, O., Beriain, M.J. & Arazuri, S. (2019). Detection of minced lamb and beef fraud using NIR spectroscopy. *Food Control*, **98**, 465–473.
- Louveaux, J., Maurizio, A. & Vorwohl, G. (1978). Methods of melissopalynology. *Bee World*, **59**, 139–157.
- Manley, M. (2014). Near-infrared spectroscopy and hyperspectral imaging: non-destructive analysis of biological materials. *Chemical Society Reviews*, **43**, 8200–8214.
- Manley, M., Downey, G. & Baeten, V. (2008). Spectroscopic technique: near-infrared (NIR) spectroscopy. In: *Modern Techniques for Food Authentication* (edited by D.-W. Sun). Pp. 65–116. Oxford: Elsevier.
- Marini, F., Bucci, R., Magrì, A.L. & Magrì, A.D. (2006). Authentication of Italian CDO wines by class-modeling techniques. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, **84**, 164–171.
- Maurizio, A. (1976). Microscopy of honey. In: *Honey: A Comprehensive Survey* (edited by E. Crane). Pp. 240–257. London, England: William Heinemann Ltd.
- Melin, A., Rouget, M., Midgley, J.J. & Donaldson, J.S. (2014). Pollination ecosystem services in

- South African agricultural systems. *South African Journal of Science*, **110**, 1–9.
- Mishra, G., Srivastava, S., Panda, B.K. & Mishra, H.N. (2018). Rapid assessment of quality change and insect infestation in stored wheat grain using FT-NIR spectroscopy and chemometrics. *Food Analytical Methods*, **11**, 1189–1198.
- Morgano, M.A., Teixeira Martins, M.C., Rabonato, L.C., Milani, R.F., Yotsuyanagi, K. & Rodriguez-Amaya, D.B. (2012). A comprehensive investigation of the mineral composition of Brazilian bee pollen: Geographic and seasonal variations and contribution to human diet. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **23**, 727–736.
- Mucina, L., Rutherford, M.C. & Powrie, L.W. (2006). Vegetation atlas of South Africa, Lesotho and Swaziland. *Strelitzia*, **19**, 749–807.
- Murray, I. & Cowe, I. (2004). Sample preparation. In: *Near-Infrared Spectroscopy in Agriculture* (edited by C.A. Roberts, J. Workman Jr. & J.B.I. Reeves). Pp. 75–112. Madison, USA: American Society of Agronomy, Crop Science of America, Soil Science of America.
- Næs, T. & Martens, H. (1988). Principal component regression in NIR analysis: Viewpoints, background details and selection of components. *Journal of Chemometrics*, **2**, 155–167.
- Naila, A., Flint, S.H., Sulaiman, A.Z., Ajit, A. & Weeds, Z. (2018). Classical and novel approaches to the analysis of honey and detection of adulterants. *Food Control*, **90**, 152–165.
- NEMBA. (2014). Alien and invasive species lists. *Government Gazette*, **584**, 1–96.
- Norris, K. (2009). Hazards with near infrared spectroscopy in detecting contamination. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, **166**, 165–166.
- Oroian, M. & Sorina, R. (2017). Honey authentication based on physicochemical parameters and phenolic compounds. *Computers and Electronics in Agriculture*, **138**, 148–156.
- Pascual-maté, A., Osés, S.M., Fernández-muiño, M.A. & Teresa, M. (2018). Methods of analysis of honey. *Journal of Apicultural Research*, **57**, 38–74.
- Pasquini, C. (2003). Near infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **14**, 198–219.
- Payne, K. (2019). *Rapid differentiation of South African game meat using portable near-infrared (NIR) spectroscopy*. [Masters Thesis] South Africa: Stellenbosch University.
- Popping, B. & Diaz-Amigo, C. (2014). The probability of obtaining: A correct and representative result in allergen analysis. *Agro Food Industry Hi-Tech*, **25**, 29–31.
- Prica, N., Živkov-Baloš, M., Jakšić, S., Mihaljev, Ž., Kartalović, B., Babić, J. & Savić, S. (2014). Moisture and acidity as indicators of the quality of honey originating from Vojvodina region. *Arhiv veterinarske medicine*, **7**, 99–109.
- Rensburg, T.F.J. Van. (1987). *An introduction to fynbos*. Pretoria: Department of Environment Affairs.
- Roger, J.M., Chauchard, F. & Bellon-Maurel, V. (2003). EPO-PLS external parameter orthogonalisation of PLS application to temperature-independent measurement of sugar content of intact fruits. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, **66**, 191–204.

- SABIO. (2008). *Section 7 committee investigation: beekeeping in South Africa*.
- Savitzky, A. & Golay, M.J.E. (1964). Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. *Analytical Chemistry*, **36**, 1627–1639.
- Schulz, H. (2004). Analysis of coffee, tea, cocoa, tobacco, spices, medicinal and aromatic plants, and related products. In: *Near-Infrared Spectroscopy in Agriculture* (edited by L. Al-Amoodi). Pp. 345–376. Wisconsin, USA: American Society of Agronomy, Crop Science of America, Soil Science of America.
- Sendin, K., Williams, P.J., Manley, M., Sendin, K., Williams, P.J. & Manley, M. (2018). Near infrared hyperspectral imaging in quality and safety evaluation of cereals Near infrared hyperspectral imaging in quality and safety evaluation of cereals. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **58**, 575–590.
- Sharma, S., Goodarzi, M., Ramon, H. & Saeys, W. (2014). Performance evaluation of preprocessing techniques utilizing expert information in multivariate calibration. *Talanta*, **121**, 105–112.
- Sohaimy, S.A. El, Masry, S.H.D. & Shehata, M.G. (2015). Physicochemical characteristics of honey from different origins. *Annals of Agricultural Sciences*, **2**, 279–287.
- Szymańska, E., Gerretzen, J., Engel, J., Geurts, B., Blanchet, L. & Buydens, L.M.C. (2015). Chemometrics and qualitative analysis have a vibrant relationship. *Trends in Analytical Chemistry*, **69**, 34–51.
- Tahir, H.E., Xiaobo, Z., Tinting, S., Jiyong, S. & Mariod, A.A. (2016). Near-infrared (NIR) spectroscopy for rapid measurement of antioxidant properties and discrimination of sudanese honeys from different botanical origin. *Food Analytical Methods*, **9**, 2631–2641.
- Thakodee, T., Deowanish, S. & Duangmal, K. (2018). Melissopalynological analysis of stingless bee (*Tetragonula pagdeni*) honey in Eastern Thailand. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, **21**, 620–630.
- Townsend, G.F. (1976). Processing and storing liquid honey. In: *Honey: A Comprehensive Survey* (edited by E. Crane). Pp. 207–239. London, England: William Heinemann Ltd.
- White, J.W. (1976a). Composition of honey. In: *Honey: A Comprehensive Survey* (edited by E. Crane). Pp. 157–206. London, England: William Heinemann Ltd.
- White, J.W. (1976b). Physical characterisations of honey. In: *Honey: A Comprehensive Survey* (edited by E. Crane). Pp. 207–239. London, England: William Heinemann Ltd.
- Wilkerson, E.D., Anthon, G.E., Barrett, D.M., Sayajon, G.F.G., Santos, A.M. & Rodriguez-saona, L.E. (2013). Rapid assessment of quality parameters in processing tomatoes using hand-held and benchtop infrared spectrometers and multivariate analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **61**, 2088–2095.
- Williams, P. (2008). Sampling, sample preparation, and sample selection. In: *Handbook of Near-Infrared Analysis* (edited by D.A. Burns & E.W. Ciurczak). Pp. 267–295. Boca Raton, Fla.: Taylor & Francis.
- Williams, P., Antoniszyn, J. & Manley, M. (2019). *Near-infrared technology: getting the best out of*

light. African Dun. 1st edn. African Sun Media.

- Wold, S., Ruhe, A., Wold, H. & Dunn, J. (1984). The collinearity problem in linear regression. The partial least squares (PLS) approach to generalized inverses. *Journal of Scientific Computing*, **5**, 735–743.
- Wold, S. & Sjöström, M. (1977). SIMCA: a method for analyzing chemical data in terms of similarity and analogy. In: *Chemometrics: Theory and Application* (edited by B.R. Kowalski). Pp. 243–282. Washington: ACS Symposium Series.
- Woodcock, T., Downey, G., Kelly, J.D. & O'Donnell, C. (2007). Geographical classification of honey samples by near-infrared spectroscopy: A feasibility study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 9128–9134.
- Workman Jr., J. (2004). Near-infrared spectrophotometers. In: *Near-Infrared Spectroscopy in Agriculture* (edited by Al-Amoodi). Pp. 11–32. Wisconsin, USA: American Society of Agronomy, Crop Science of America, Soil Science of America.
- Workman Jr., J. & Shenk, J. (2004). Understanding and using the near-infrared spectrum as an analytical method. In: *Near-Infrared Spectroscopy in Agriculture* (edited by C.A. Roberts, J. Workman Jr. & J.B. Reeves III). Pp. 3–10. Madison, USA: American Society of Agronomy, Crop Science of America, Soil Science of America.
- Ye, J., Janardan, R. & Li, Q. (1980). Two-dimensional linear discriminant analysis. *Advances in Neural Information Processing Systems*, **17**, 1569–1576.
- Zhu, X., Li, S., Shan, Y., Zhang, Z., Li, G., Su, D. & Liu, F. (2010). Detection of adulterants such as sweeteners materials in honey using near-infrared spectroscopy and chemometrics. *Journal of Food Engineering*, **101**, 92–97.

HOOFSTUK 3

MATERIALE EN METODES

Monsters

Botanies

Monsters is van regoor Suid-Afrika ingesamel. Die meeste van die monsters is deur byeboere geskenk; die res is aangekoop. Daar is sewe verskillende tipes enkelblomheunings wat ingesamel is, insluitende die volgende: lusern (9 monsters en geëtiketteer met L1-L9); makadamia (10 monsters geëtiketteer met M1-M10); rooibloekom (9 monsters geëtiketteer met RB1-RB9); saligna (10 monsters geëtiketteer met S1-S10); sitrus (12 monsters geëtiketteer met Si1-Si12); Sandveld (Weskus) (30 monsters geëtiketteer met Sa1-Sa30) en Strandveld (Suidelike Kaap) (10 monsters geëtiketteer met St1-St10). Die meeste van die heuningmonsters het onsuierhede bevat en sommige was gekristalliseer. Die heuning is vir 12 ure geïnkubeer (40°C) vir die oplossing van kristalle en daarna deur 'n deurgooidoek (0.42 mm maas) gegiet vir die verwydering van onsuierhede.

Geografies

Heuningmonsters is van drie verskillende geografiese oorspronge ingesamel (**Tabel 3.1**). Die drie areas was Hopefield, Stanford, en Stellenbosch. Om die monstervariasie te verbreed is daar oor twee seisoene (November 2018 en Maart 2019) heuning ingesamel van dieselfde korwe om 'n goeie verteenwoordiging van die area se blomme te kry. Deur die tipe plantegroei in die drie areas te noteer, is daar 'n idee van watter blomme die bye gebruik het om die heuning te maak tydens die twee seisoene. Plantegroei van die areas is oor die algemeen 'n mengsel van fynbosspesies en *Eukaliptus*-bome. Die Hopefield-area bestaan meestal uit Sandveld fynbos en die Stanford-area meestal uit *Eukaliptus*-bome terwyl die Stellenbosch-area beide verteenwoordig. Die heuningkoeke is ontdop en teen 'n skuinste gelos sodat die heuning uit kan drup. Daarna is die heuning afgegiet deur 'n deurgooidoek (0.42 mm maas) om was, bye en onsuierhede te verwyder. Die monsters is by yskastemperatuur (4°C) geberg tot analise. Die heuning is 12 ure voor analise in 'n inkubator (40°C) gesit vir die oplossing van die kristalle.

Tabel 3.1 Geografiese oorspronge van heuningmonsters met tyd van insameling, tipes plantegroei in die area en aantal monsters van elk.

Plek van insameling	Tyd van insameling	Plantegroei	N	N _{Tot}
Hopefield	November 2018	Sandveld fynbos (wasbossies, penbossies en proteas), etlike van grys- en swartysterbasbloekom	8	16
	Maart 2019	Sandveld fynbos (Erikas), etlike van suikerbloekom	8	
Stanford	November 2018	Elim ferricrete- en Strandveld fynbos (wasbossies, penbossies en proteas), Australiese mirt en vele van suikerbloekom en bloekom	5	14
	Maart 2019	Etlike van Elim ferricrete fynbos (erikas) en vele van suikerbloekom en bloekom	9	
Stellenbosch	November 2018	Boland-graniet-, Swartland-graniet- en Swartland-alluviumfynbos (wasbossies, penbossies en proteas), swartysterbasbloekom, salignabloekom, rooiblombloekom, ramenas, egium, vetch en gousblom	13	26
	Maart 2019	Boland-graniet-, Swartland-graniet- en Swartland-alluviumfynbos (erikas), suiker- en rooibloekom	13	

N (aantal monsters van tyd van insameling); *N_{Tot}* (totale aantal monsters van beide insamelings tye)

Totale oplosbare vastestowwe-aanpassing

Die totale oplosbare vaste stowwe is aangepas na 70°Brix om variasie tussen die monsters uit te skakel. Die °Brix is gemeet met 'n refraktometer en daarna aangepas met gedistilleerde water. Die berekening is gedoen om te bepaal hoeveel dH₂O om by te voeg.

$$M_{\text{heuning}} = \frac{B_{\text{einde}} M_{\text{einde}}}{B_{\text{heuning}}} \quad (3.1)$$

$$M_{\text{water}} = M_{\text{einde}} - M_{\text{heuning}} \quad (3.2)$$

Met:

M (Massa in g)

B (Suikerinhoud in °Brix)

$B_{\text{einde}} = 70^{\circ}\text{Brix}$

$M_{\text{einde}} = 20 \text{ g}$

$B_{\text{heuning}} = \text{Veranderlike wat gemeet word}$

NIR-instrumente

Monsters is met twee verskillende NIR-spektrofotometers geskandeer: transfleksiespektra is verkry met die tafellaboratoriuminstrument, BÜCHI NIRFlex-500 Fourier-transformasie naby-infrarooi (FTNIR) spektrofotometer (BÜCHI Labortechnik GmbH, Flawil, Switzerland). 'n Spektrale reeks van 1100-2500 nm is gebruik om die spektrale data te kry (1 mm padlengte). Boonop het die BÜCHI-instrument 32 skanderings per analise uitgevoer en elke monster is drie keer geskandeer (geen hervpakking tussen skanderings) met 'n optiese resolusie van 16 cm^{-1} .

Die mobiele handapparaat was 'n MicroNIR 1700 (JDSU Corporation, Santa Rosa, CA, VSA) met 'n geïntegreerde vakuumwolframlamp. Die monsters is aan die spektrofotometer op twee maniere aangebied, naamlik, in 'n wit Teflonkoppie (0,9 cm radius x 0,9 cm diepte) en 'n glasflessie (1 mm padlengte) beide met diffusierefleksie. Die instrument is gebruik op 'n golflengte van 950–1650 nm met 'n golflengte-spesifieke resolusie van 1% van die golflengte. Boonop het die instrument 100 skanderings per analise uitgevoer.

Spektrale verkryging

Met die tafelinstrument is die heuningmonster in die middel van die glaspetribakkie gegooi sodat die helfte van die oppervlakte bedek is. Daarna is die metaaltransfleksieaanpasser bo-op die heuning geplaas deur te begin teen 'n skuinste en dit stadig al hoe platter teen die oppervlak van die petribakkie te plaas. Dit is op hierdie wyse gedoen om die vorming van lugborrels te voorkom wat geneig is om te gebeur wanneer die metaaltransfleksieaanpasser direk plat op die heuning in die petribakkie geplaas word.

Met die handapparaat is die heuningmonsters op twee maniere aan die spektrofotometer voorgestel. Vir die eerste wyse is die heuningmonster in die Teflonkoppie gegiet en liggies teen die bankoppervlakte gekap en gelos vir vyf minute om die borrels tot by die oppervlak van die heuning te bring. Daarna is die borrels met 'n spatel afgeskep. Die monster is drie maal geskandeer met 'n rotasie van die Teflonkoppie tussen skanderings. Met die draai van die monster tussen skanderings word verseker dat alle variasies in die monster gedek is. Vir die tweede wyse is die heuningmonster in 'n glasflessie gegiet sodat dit kwart vol was. 'n Teflonstaaf is gebruik om 'n padlengte van 1 mm te vorm wat binne in die flessie saam met die monster geplaas is. Hierdie flessie is dan binne 'n flessie-aanpasser geplaas en tussen skanderings is die flessie gedraai. Daar is toe bevind dat die monsters nie net drie maal geskandeer kon word nie. Die staaf binne die flessie het klein bewegings getoon en só het die padlengte nie konstant gebly nie. Dus moes monsters soms tot meer as tien maal geskandeer word om al die variasies binne-in die monster vas te lê. Alle botaniese monsters is 'n tweede maal geskandeer, met beide instrumente, met verskillende tydsdure van maande tussen die skanderings (**Tabel 3.2**). Die eerste skandering is binne die eerste week van die ontvangs van die monsters gedoen en daar is toe besluit om die tweede skandering van al die monsters gedurende Junie 2019 te doen. Dit het 'n periode geskep waartydens die monsters kon verouder, maar met

verskillende verouderingstydperke. Dit het ook veroorsaak dat die proses onafhanklik van die tipe enkelblomheuningsoort was. Hierdie proses van veroudering skep 'n meer realistiese omgewing waar monsters nie noodwendig altyd almal dieselfde ouderdom gaan wees nie. Die monsters is tussen die twee skanderingstye in 'n yskas (4°C) geberg en alle monsters is onder dieselfde toestande by kamertemperatuur (23°C) geskandeer. Daar was wel 'n paar monsters wat weer geskandeer moes word omdat die eerste skandering nie suksesvol was nie. Dit het gemaak dat die tweede skandering die nuwe eerste skandering word en die derde skandering gesien word as die tweede skandering. Die verouderingsproses was dus ook anders. Vir daardie monsters was die nuwe eerste skandering op 8 maande en die nuwe tweede skandering op 10 maande wat 'n tweemaande verouderingstydperk tussen die twee skanderings was. Hierdie monsters is met 'n * in **Tabel 3.2** gemerk. Twee ander monsters is ook soos bo herskandeer en is dus by die nuwe eerste skandering op 5 maande en die nuwe tweede skandering op 7 maande gevoeg wat ook 'n tweemaande-verouderingstydperk tussen die twee skanderings insluit (monsters gemerk op **Tabel 3.2** met **). Daar was ook 15 Sandveld-fynbosmonsters wat een jaar oud was voordat dit vir die eerste keer geskandeer is (geberg in 'n yskas by 4°C). Die heuningmonsters is geskenk, maar was al in 2017 uit die korf gehaal en is in **Tabel 3.2** met *** gemerk.

Tabel 3.2 Veroudering (maande) tussen skandering van enkelblom heuningmonsters (kode).

Veroudering (maande tussen eerste en tweede skandering)						
1	2	3	4	5	7	8
L4	L1*	L9	S8	St5	Sa19	St1
L7	L2*	M4	Sa4***		Sa20	
M6	L3*	M5	Sa5***		Sa21	
M7	L5*	RB4	Sa6***		Sa22	
M8	L6*	RB5	Sa7***		Sa23	
M9	L8	RB6	Sa8***		Sa24	
M10	M1*	RB7	Sa9***			
RB2	M2*	Sa3	Sa10***			
RB8	M3*	Sa25	Sa11***			
RB9	RB1*	Sa26	Sa12***			
S9	RB3*	Sa27	Sa13***			
S10	S1*	Sa28	Sa14***			
Si9	S2*	Sa29	Sa15***			
Si10	S3*	Sa30	Sa16***			
Si11	S4*	Si3	Sa17***			
Si12	S5*	Si4	Sa18***			
St10	S6*	Si5				
	S7*	Si6				
	Sa1**	Si7				
	Sa2**	Si8				
	Si1*					
	Si2*					
	St2*					
	St3*					
	St4*					
	St5*					
	St6*					
	St7*					
	St8*					

L (lusern); M (makadamia); RB (rooibloekom); S (saligna); Si (sitrus); Sa (Sandveld); St (Strandveld); * (monsters wat herskandeer en by nuwe eerste skandering 8 maande oud was); ** (monsters wat herskandeer en by nuwe eerste skandering 5 maande oud was); *** (monsters wat by eerste skandering 1 jaar oud was)

Spektrale data analise

Spektrale analise is met Unscrambler x10.5 (Camo Software AS, Oslo, Norway), MATLAB (R2015b, The Mathworks, Natick, MA) en PLS_Toolbox [Solo] (Eigenvector Research Inc., Wenatchee, WA) gedoen.

Verkennde data-analise

Hoofkomponentalanalise (PCA)

PCA is toegepas op gemiddeldgesentreerd (MC) spektra wat vooraf met eksterne parameter-ortagonalisering (EPO) (Cowe & McNicol, 1985; Roger *et al.*, 2003) behandel is. Die PCA van die drie verskillende aanbiedingsmetodes is almal met sewe hoofkomponente (PC's) vir eweredigheid bereken. Die PCA-tellings en beladingstippings is beide gebruik om die data te analiseer. Die tellingstippings word gebruik om te sien of die data klusters vorm en of die groepe visueel van mekaar onderskei kan word asook om potensiële uitskieters op te spoor.

Uitskieters kan die bou van 'n model redelik beïnvloed en daarom is dit belangrik om hulle op te spoor en te besluit of dit 'n ware uitskieter is of nie (Wold *et al.*, 1987). Deur net na die tellingstippings te kyk kan die uitskieters hulself maklik uitwys, maar om werklik seker te wees of dit 'n uitskieter is, word daar ook na die invloedstippings gekyk. Die invloedstipping is 'n stipping van die residueelkwadrate teenoor die invloede. Die invloede op die stippings kan gesien word as die afstand tussen die geprojekteerde punt en die middelpunt van die model. Wanneer 'n punt 'n groot invloed het op die model, is dit nie noodwendig 'n uitskieter nie. Voor hierdie monsters van die datastel verwyder word, moet daar seker gemaak word wat die rede vir die afwyking is. Is dit die aard van die monster of is dit 'n eksperimentele fout? Indien uitskieters verwyder word wat byvoorbeeld nie eksperimentele foute ondergaan het nie en slegs spektrale verskille bevat, kan belangrike inligting van die model verwyder word. Maar gewoonlik wanneer die monster 'n hoë residueel en hoë invloed het (wat in die regterkanste boonste kwadrant van 'n invloedstipping lê), word dit gesien as 'n ware uitskieter en dit kan dan van die monsterstel verwyder word.

Nadat PCA gedoen is, is 'n meerverandelike data-analise gedoen vir klassifikasie volgens die botaniese en geografiese oorsprong. In hierdie geval is alle uitskieters en golflengtes eers in die modelle gelaat. Dit is so gedoen, aangesien daar min monsters was om mee te begin en die verwydering van een monster die model drasties sou verander. Later in die studie is die beste modelle met die uitskieters wat verwyder is, herbereken om te vergelyk of daardie monsters wel waardevolle inligting bevat het.

Of golflengte in die model gelaat word of nie, maak gewoonlik nie 'n vreeslike verskil nie (Wold *et al.*, 1987). Tensy daar werklike eksperimentele of spektrale kostes aan die model betaal moet word wanneer dit ingelaat word, kan dit verwyder word. Daarom is die hele golflengtereeks in hierdie studie gebruik vir die bou van modelle. Literatuurstudies is die bewys dat die meeste navorsers geen golflengtes verwyder het nie (Woodcock *et al.*, 2007; Latorre *et al.*, 2013; Escuredo *et al.*, 2015; Tahir *et al.*, 2016; Bisutti *et al.*, 2019).

Meerveranderlike data-analise

Modelontwikkeling met PLS-DA

Klassifikasie Modelle met partiële kleinste kwadratiskriminantanalise (PLS-DA) (Wold *et al.*, 1984) is ontwikkel om botaniese tussen Suid-Afrikaanse fynbos en 'ander' enkelblom heunings te onderskei; en om geografies tussen heunings van Stellenbosch, Hopefield en Stanford te onderskei. Die plan met die botaniese klassifikasie was om tussen alle enkelblomheuningsoorte te onderskei, maar weens die min monsters per enkelblomheuningsoort was dit nie moontlik nie. Daar is dus besluit om slegs tussen die fynbos- en die res van die enkelblomheunings te onderskei.

Spektra is met verskeie kombinasies van voorafbehandelings tegnieke geprosesseer [SNV; SNV + DT; DT; SG (2de afgeleide, 3de veelterm, 11 gladdingspunte); EPO (5 PC); EPO (5 PC) + SNV; EPO (5 PC) + SNV + DT; EPO (5 PC) + DT; EPO (5 PC) + SG (2de afgeleide, 3de veelterm, 11 gladdingspunte)] (**Addendum A, Fig. A.1**). Met verskillende aantal PC's met EPO is daar gevind dat 5 PC's die beste resultate gelever het en dieselfde vir tweede afgeleides van SG met die derde veelterm met 11 gladdingspunte. EPO is gebruik deur 'n Q-matriks te bou van die kalibrasiedata. Die Q-matriks word gebruik om die eksterne faktor van die matriks af te trek (indiepteverduideliking in **Hoofstuk 2, voorafbehandelings tegnieke**). In die geval van die botaniese spektra word EPO gebruik om van die verskillende tye van skandering ontslae te raak, en by geografiese spektra om van die verskillende seisoene (November 2018 en Maart 2019) ontslae te raak.

Nadat die data vooraf behandel is, is dit in afsonderlike kalibrasie- en validasiestelle verdeel met Kennard-Stone (KS) of die DUPLEX-algoritme sodat die data 70% (kalibrasie) en 30% (validasie) geskei is. Die botaniese data is so geskei dat die eerste en tweede skandering van 'n monster in dieselfde groep gehou is.

KS selekteer twee punte wat die verste van mekaar is met die Euklidiese afstand (Kennard & Stone, 1969). Hierdie punte word dan toegewys aan die kalibrasiestel en word dan van die lys van punte verwyder. Daarna word die oorblywende punte aan die kalibrasiestel toegewys deur die Euklidiese afstand tussen die punte wat nog nie toegeken is nie en die reeds geselekteerde punte te maksimeer. Hierdie proses duur voort tot die gedefinieerde hoeveelheid punte verkry is.

DUPLEX is baie soos KS, maar verskil deurdat dit nie net vir die kalibrasiestel punte selekteer nie, maar ook vir die validasiestel (Snee, 1977). Dit begin werk soos die KS-algoritme deur twee punte wat die verste van mekaar is met 'n Euklidiese afstand te kies en wys dit toe aan die kalibrasiestel. Hierdie twee punte word dan verwyder van die lys van punte. Daarna selekteer dit die volgende twee punte wat die verste van mekaar is en wys dit aan die validasiestel toe en weereens word die twee punte van die lys van punte verwyder. Tydens die laaste stap gaan die prosedure voort om die oorblywende punte alternatiewelik aan die kalibrasie- en validasiestelle toe te wys volgens die Euklidiese afstand van die punte wat reeds geselekteer is.

Klassifikasie-akkuraatheid, sensitiwiteit en spesifisiteit is volgens vergelykings 3.3, 3.4 en 3.5 onderskeidelik bereken (Payne, 2019). Sensitiwiteit word ook geken as die ware positiewe koers wat verduidelik hoe sensitief die model is om elke keer die ware positiewe reaksies korrek as positief te klassifiseer wat dan die doeltreffendheid van die model beskryf. Soortgelyk word spesifisiteit ook as die ware negatiewe koers geken. Spesifisiteit beskryf hoe gereeld die model die negatiewe reaksies korrek as negatief klassifiseer en hoe gereeld die voorspelling korrek is. Laastens is die wanindielingskoers volgens vergelyking 3.6 bereken om te sien hoe gereeld die klassifikasie verkeerd was.

$$\text{Klassifikasie-akkuraatheid (\%)} = \frac{TP+TN}{(TP+TN+FP+FN)} \times 100\% \quad (3.3)$$

$$\text{Sensitiwiteit (\%)} = \frac{TP}{(TP+FN)} \times 100\% \quad (3.4)$$

$$\text{Spesifisiteit (\%)} = \frac{TN}{(TN+FP)} \times 100\% \quad (3.5)$$

$$\text{Wanindielingskoers (\%)} = \frac{FP+FN}{(TP+TN+FP+FN)} \times 100\% \quad (3.6)$$

Waar:

Ware Positiewe (TP) = Positiewe reaksie korrek as positief geklassifiseer

Ware Negatiewe (TN) = Negatiewe reaksie korrek as negatief geklassifiseer

Vals Positiewe (FP) = Negatiewe reaksie verkeerdelik as positief geklassifiseer

Vals Negatiewe (FN) = Positiewe reaksie verkeerdelike as negatief geklassifiseer

Uitskieter verwydering

Nadat al die modelle met verskillende dataskleidingsmetodes en voorafbehandelingstegnieke ondersoek is, is die beste modelle gekies om verdere behandeling te ondergaan. Gewoonlik word uitskieters van die monsterstel verwyder nog voor modelle ontwikkel word, maar aangesien daar so min monsters per klas was, is daarteen besluit en is eers later verwyder van slegs die beste modelle.

Eers is gekyk of daar enige uitskieters teenwoordig is, en om uitskieters te identifiseer is daar na die tellings sowel as die invloedstipping gekyk (in meer diepte bespreek soos bo by **Hoofkomponentanalise (PCA)**). Nadat uitskieters verwyder (USV) is, is die PCA-model herbereken, waar die tellingstippings, belading en korrelasiebelading stippings weer ondersoek is. En laastens is die PLS-DA-modelle ook herbereken en geanaliseer om te sien of dit die modelle verbeter of verswak het en of dit van waarde was om die verdere prosessering uit te over.

VERWYSINGS

Bisutti, V., Merlanti, R., Serva, L., Lucatello, L., Mirisola, M., Balzan, S., Tenti, S., Fontana, F., Trevisan, G., Montanucci, L., Contiero, B., Segato, S. & Capolongo, F. (2019). Multivariate and

- machine learning approaches for honey botanical origin authentication using near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, **27**, 65–74.
- Cowe, I.A. & McNicol, J.W. (1985). Use of principal components in the analysis of near-infrared spectra. *Applied Spectroscopy*, **39**, 257–266.
- Escuredo, O., González-Martín, M.I., Rodríguez-Flores, M.S. & Seijo, M.C. (2015). Near infrared spectroscopy applied to the rapid prediction of the floral origin and mineral content of honeys. *Food Chemistry*, **170**, 47–54.
- Kennard, R.W. & Stone, L.A. (1969). Computer aided design of experiments. *Technometrics*, **11**, 137–148.
- Latorre, C.H., Crecente, R.M.P., Martín, S.G. & García, J.B. (2013). A fast chemometric procedure based on NIR data for authentication of honey with protected geographical indication. *Food Chemistry*, **141**, 3559–3565.
- Payne, K. (2019). *Rapid differentiation of South African game meat using portable near-infrared (NIR) spectroscopy*. [Masters Thesis] South Africa: Stellenbosch University.
- Roger, J.M., Chauchard, F. & Bellon-Maurel, V. (2003). EPO-PLS external parameter orthogonalisation of PLS application to temperature-independent measurement of sugar content of intact fruits. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, **66**, 191–204.
- Snee, R.D. (1977). American society for quality validation of regression models: methods and examples validation of regression models: methods and examples. *Source: Technometrics*, **19**, 415–428.
- Tahir, H.E., Xiaobo, Z., Tinting, S., Jiyong, S. & Mariod, A.A. (2016). Near-infrared (NIR) spectroscopy for rapid measurement of antioxidant properties and discrimination of sudanese honeys from different botanical origin. *Food Analytical Methods*, **9**, 2631–2641.
- Wold, S., Esbensen, K. & Geladi, P. (1987). Principal component analysis. *Chemometrics and intelligent laboratory systems*, **2**, 37–52.
- Wold, S., Ruhe, A., Wold, H. & Dunn, J. (1984). The collinearity problem in linear regression. The partial least squares (PLS) approach to generalized inverses. *Journal of Scientific Computing*, **5**, 735–743.
- Woodcock, T., Downey, G., Kelly, J.D. & O'Donnell, C. (2007). Geographical classification of honey samples by near-infrared spectroscopy: A feasibility study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 9128–9134.

HOOFSTUK 4

RESULTATE EN BESPREKING

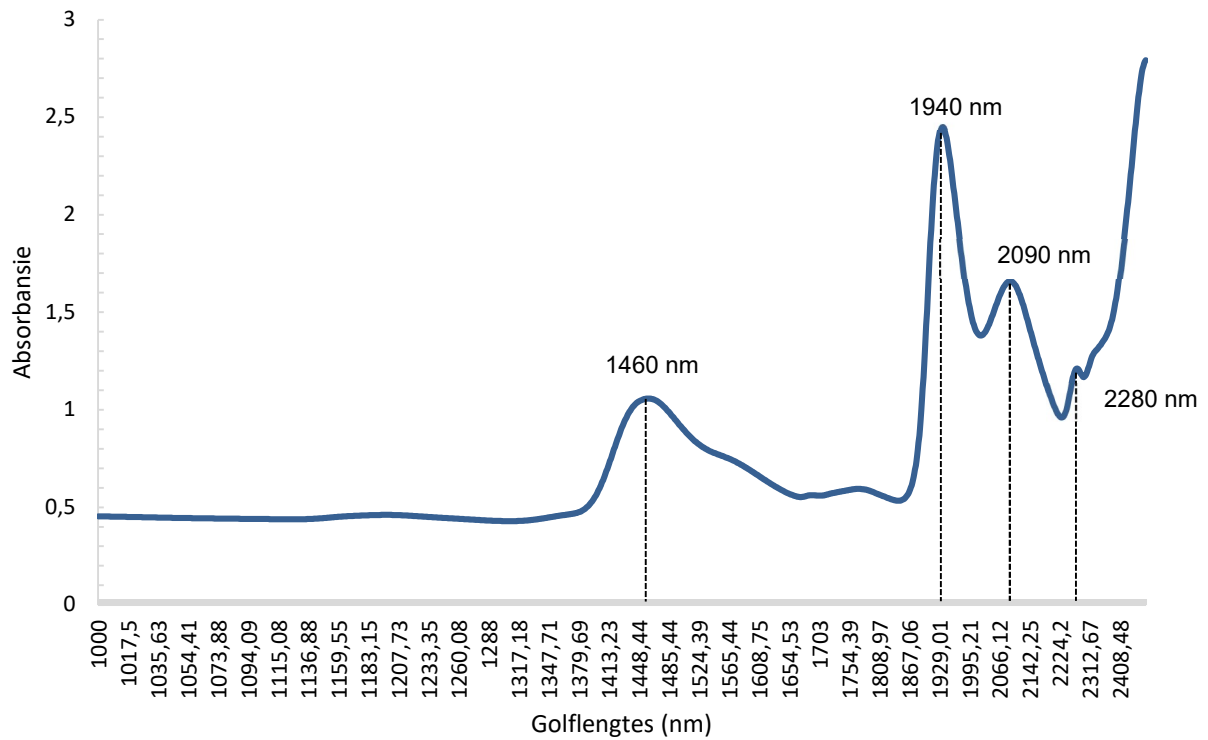
Spektrale analise

Die rou data van heuningmonsters van die drie verskillende aanbiedingsmetodes word weergegee in **Fig. 4.1** wat met die tafelinstrument geskandeer is en in **Fig. 4.2** met die handapparate (Teflonkoppie en glasflessie). In die figure van die gemiddelde spektra is daar soms ooreenkomste met die hoofabsorpsiebande, maar die tafelinstrument het 'n wyer golflengtereeks (1100-2500 nm) as die handapparaat (950-1650 nm) en bied dus meer inligting oor die heuning.

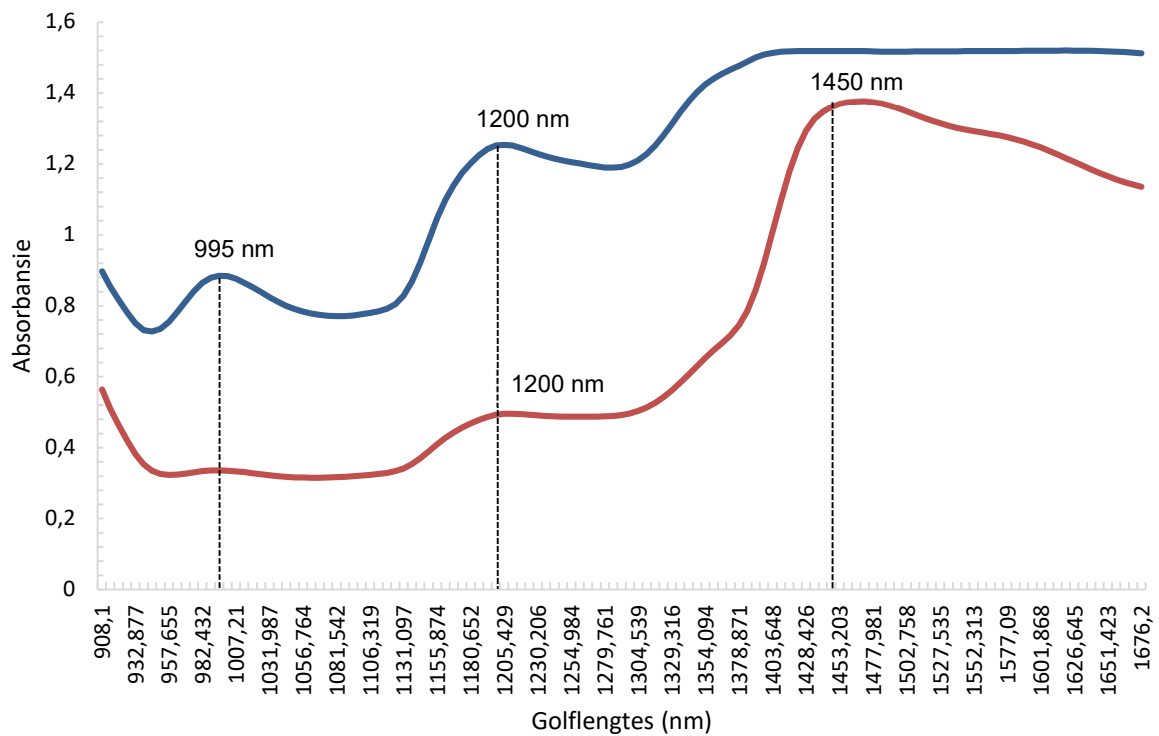
Vir die tafelinstrument is daar vier hoofabsorpsiebande getoon by 1460, 1940, 2090 en 2280 nm (**Fig. 4.1**). Die breë piek by 1460 nm (O-H-, C-H- en CH₂-deformasies) is 'n kombinasie van suikrose en vog terwyl daar by 1940 nm (kombinasie van 'n O-H-strek en deformasie) 'n duideliker vogpiek is (Woodcock *et al.*, 2007; Latorre *et al.*, 2013). Die 2090 (O-H-deformasie, eerste oortoon en C-O-strek) en 2280 nm (C-H-strek) pieke is as gevolg van suikers in die heuningmonsters.

Met die handapparaat (Teflonkoppie) (**blou**) is daar twee hoofpieke by 995 en 1200 nm (**Fig. 4.2**). Die eerste piek by 995 nm (C-H derde oortoon gebind aan 'n aromatiese ring) kan toegeken word aan aromatiese verbindings (Pasquini, 2003; Latorre *et al.*, 2013; Leme *et al.*, 2018). By 1200 nm (C-H-strek, tweede oortoon) is daar 'n strek wat suiker verwant is.

Laastens, met die handapparaat (glasflessie) (**oranje**) is daar ook slegs twee hoofabsorpsiebande by 1200 en 1450nm (**Fig. 4.2**). Die eerste piek by 1200 nm (C-H-strek, tweede oortoon) is suikers en die tweede breë piek by 1450 nm is 'n kombinasie van suiker en vog wat by 1420 nm is (Woodcock *et al.*, 2007; Latorre *et al.*, 2013; Bázár *et al.*, 2016; Payne, 2019).



Figuur 4.1 Ongeprosesseerde gemiddelde absorpsie spektra vir heuningmonsters soos gemeet met tafelinstrument.



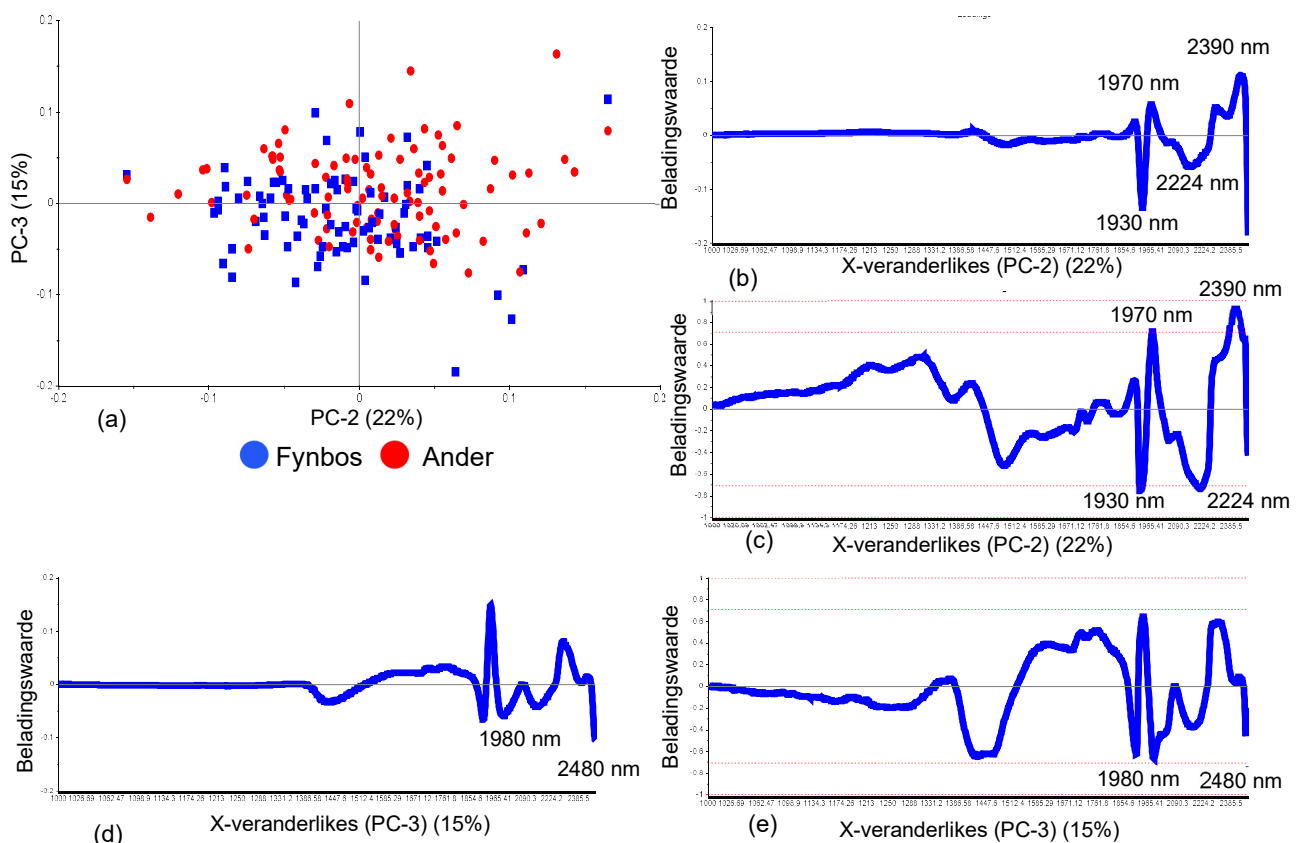
Figuur 4.2 Ongeprosesseerde gemiddelde spektra vir heuningmonsters soos gemeet met handapparaat (Teflonkoppie) (blou) en (glasflessie) (oranje).

Botanies

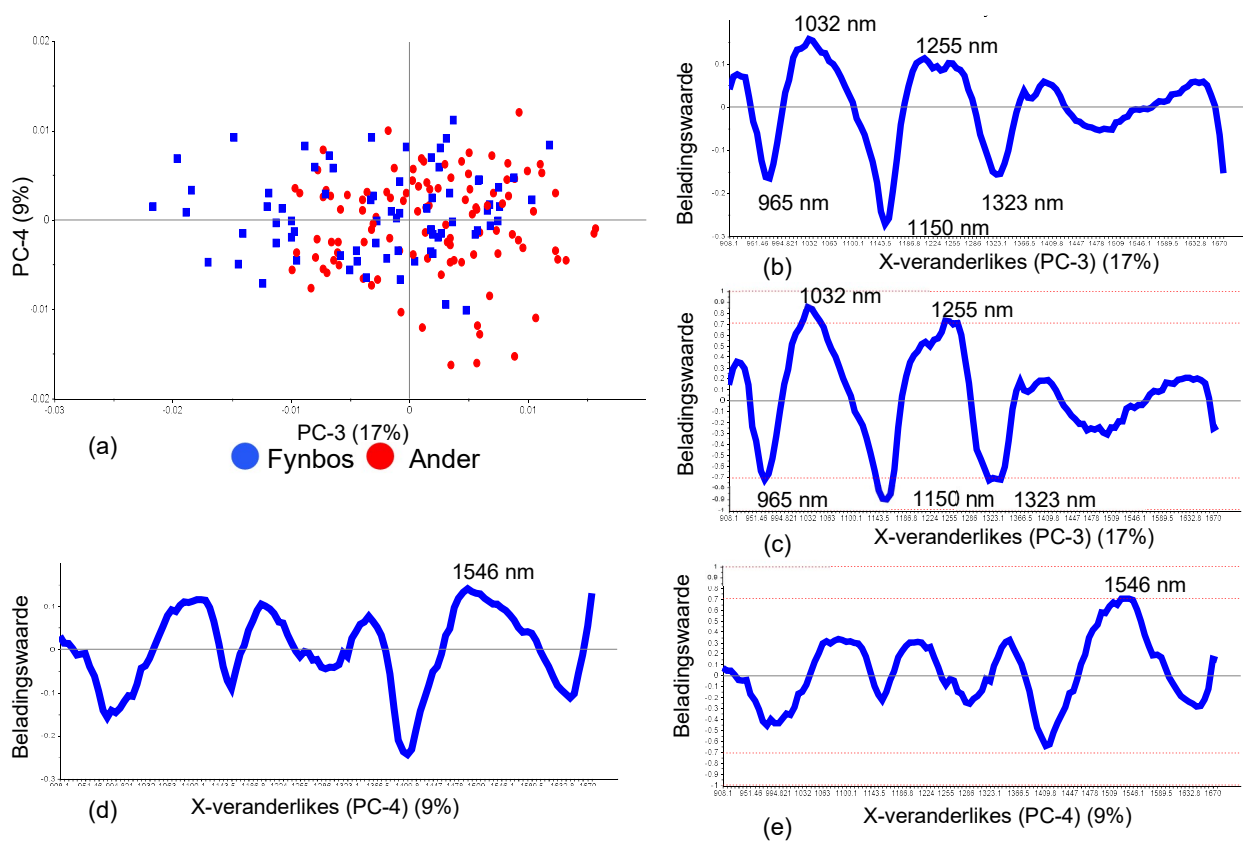
Verkennde data-analise

Hoofkomponentanalise (PCA)

PCA is gedoen om die kwalitatiewe verskille tussen die fynbos en die 'ander' enkelblomheuningmonsters in die PC-spasie waar te neem. **Fig. 4.3** illustreer die PCA-resultate van die tafelinstrument, **Fig. 4.4**, van die handapparaat (Teflonkoppie) en **Fig. 4.5**, van die handapparaat (glasflessie) voorafbehandel met eksterne parameter-ortogonalisering (EPO).

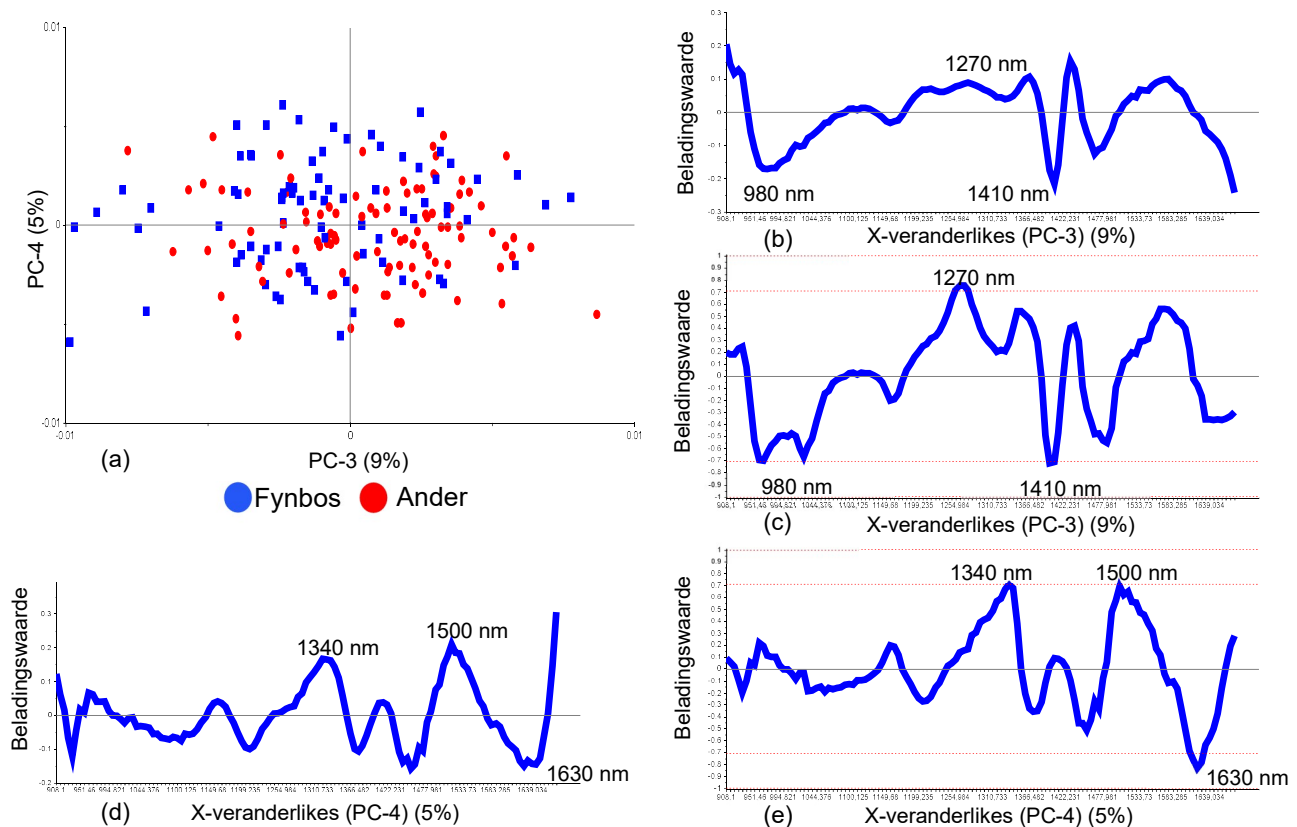


Figuur 4.3 PCA van fynbosklas (blou) teenoor 'ander' klas (rooi) vir die tafelinstrument. Minimale skeiding is waargeneem. Tellings word gegee as (a) PCA-tellingstipping van PC2 (22%) vs. PC3 (15%). (b) PCA-beladingslynstipping en (c) korrelasiebeladingsstipping vir PC2 met interpreteerbare bande by 1930, 1970, 2224 en 2390 nm; en (d) PCA-beladingslynstipping en (e) korrelasiebeladingsstipping vir PC3 met interpreteerbare bande by 1980 en 2480 nm.



Figuur 4.4 PCA van fynbosklas (blou) teenoor 'ander' klas (rooi) vir die handapparaat (Teflonkoppie). Minimale tot geen skeiding is waargeneem. Tellings word gegee as (a) PCA-tellingstipping van PC3 (17%) vs. PC4 (9%). (b) PCA-beladingslynstipping en (c) korrelasiebeladingstipping vir PC3 met interpreteerbare bande by 965, 1150, 1255 en 1323 nm; en (d) PCA-beladingslynstipping en (e) korrelasiebeladingstipping vir PC4 met 'n interpreteerbare band by 1546 nm.

Met al drie voorstellingsmetodes is daar 'n groot oorvleueling tussen die twee klasse (fynbos en 'ander') in die PCA-tellingstipping (**Fig. 4.3a-4.5a**). Dieselfde is ook deur ander navorsers gevind (Chen *et al.*, 2012; Escuredo *et al.*, 2015). Deur net na die spektra van die monsters te kyk kan daar geen afleidings gemaak word van hoekom daar minimale verskille in die spektra is nie. Om werklik te bepaal wat die gevolg is van die intra-klasvariasie van die spektra en PCA-model, moet daar ook na die beladings gekyk word. Die tellings wys die objekte in 'n subspasie wat dan die korrelasie tussen die objekte gee teenoor die beladings wat die variasie binne-in die golflengtes (variante) wys (Esbensen *et al.*, 2002). Dus kan die beladings as die relatiewe gewig van die spektrale variante in elke PC geïnterpreteer word. Die beladings dien as 'n brug tussen die variantespasie en die hoofkomponente(PC)-spasie omdat dit informasie van die variante asook die PC's gee. Dus word die tellings en beladings saam gebruik. 'n Positiewe punt gaan gepaard met die positiewe beladings, so die tellings aan die positiewe kant van die tellingstipping sal 'n hoë spektrale reaksie vir die variante aan die positiewe kant van die beladingstipping gee. En so, omgekeerd vir die negatiewe tellings en beladings.



Figuur 4.5 PCA van fynbosklas (blou) teenoor 'ander' klas (rooi) vir handapparaat (glasflessie). Minimale tot geen skeiding is waargeneem. Tellings word gegee as (a) PCA-tellingstipping van PC3 (9%) vs. PC4 (5%). (b) PCA-beladingslynstipping en (c) korrelasiebeladingstipping vir PC3 met interpreteerbare bande by 980, 1270 en 1410 nm; en (d) PCA-beladingslynstipping en (e) korrelasiebeladingstipping vir PC4 met interpreteerbare bande by 1340, 1500 en 1630 nm.

Omdat dit nie altyd duidelik is watter golflengtes in die beladingstipping bydra tot die skeiding in die tellingstipping nie, kan die korrelasiebeladingstippings gebruik word (**Fig. 4.3c-3.5c** en **Fig. 4.3.e-4.5e**) (Payne, 2019). Wanneer die variant 'n hoë belading (naby aan +1 of -1) het, toon dit of die belading interpreteerbaar is. Die rooi stippellyne in die korrelasiebeladingstipping toon hoe baie variasie deur die model waargeneem word, waar die boonste en onderste buitenste stippellyn 100% van die variasie van die gegewe variant aandui en die binneste 50%. Die spasie tussen die binneste twee stippellyne is nie interpreteerbaar nie. Wanneer die beladings dus binne die boonste en buitenste dele van die korrelasiestipping val (d.i. bo die 50%-stippellyn) kan dit geïnterpreteer word.

In die tellingstipping van die tafelinstrument (**Fig. 4.3a**) het die "ander" klas meer in die positiewe tellings as negatief, terwyl die fynbosklas effens meer negatiewe tellings as positiewe tellings het. Die minimale skeiding tussen die twee klasse lê in die rigting van PC3. Die beladingslynstipping van PC2 toon interpreteerbare positiewe bande by 1970 en 2390 nm en negatiewe bande by 1930 en 2224 nm (**Fig. 4.3b-c**). Alhoewel daar min skeiding tussen die klasse is, kan hierdie bande die intra-klasvariasie verduidelik. Die golflengte, 1970 nm, word geassosieer met O-H-kombinasies (Golic *et al.*, 2003), en die 2390 nm-band wat na aan die 2407 nm-band is, kan toegeken word aan C-H-

aromatiese bindings (Williams *et al.*, 2019). Die O-H-strek van vog is by 1930 nm en die 2224 nm-band is C-H-kombinasiebande wat na aan 2200 nm lê wat koolhidrate is. PC3 het slegs negatiewe interpreteerbare bande van 1980 nm (**Fig. 4.3d-e**) wat aan proteïne toegeken kan word wat wel in klein hoeveelhede in heuning voorkom (Naila *et al.*, 2018; Williams *et al.*, 2019); en 2480 nm wat O-H-, C-H- en C-H₂-deformasies van die 2de oortoon is (Golic *et al.*, 2003).

Vir die handapparaat (Teflonkoppie) (**Fig. 4.4a**) is die fynbosklas se tellings eweredig positief en negatief versprei, terwyl die 'ander' klas meestal negatiewe tellings op PC-4 het, maar die meerderheid is steeds 'n oorvleueling van die twee klasse. PC3 wys twee positiewe bande by 1032 nm (**Fig. 4.4b-c**) wat na aan 1024 nm is wat aan water toegeken word (Williams *et al.*, 2019); en 1255 nm wat 'n C-H-binding (tweede oortoon) is en tussen 1200 en 1300 nm alifatiese koolwaterstowwe absorbeer. Die negatiewe beladings het drie interpreteerbare bande: by 965 nm is daar 'n O-H-strek (tweede oortoon) wat water is (Golic *et al.*, 2003; Williams *et al.*, 2019); die 1150 nm band is 'n C-H-strek (tweede oortoon) (Leme *et al.*, 2018); en die 1323 nm is 'n C-H-binding (derde oortoon) wat aan 'n aromatiese ring gebonde is. Laastens is die enigste interpreteerbare band in PC4 by 1546 nm (**Fig. 4.4d-e**) wat aan glukose toegeskryf kan word (Golic *et al.*, 2003).

Die laaste voorstellingsmetode van die handapparaat (glasflessie) het weereens minimale skeiding van die klasse (**Fig. 4.5a**), en baie soos die handapparaat (Teflonkoppie) is die fynbosklas eweredig versprei, maar het effens meer positiewe tellings, en die 'ander' klas het weer effens meer negatiewe tellings. Die belading- en korrelasiebeladingstippings (**Fig. 4.5b-c**) dui PC3 aan wat slegs een positiewe band het van 1270 nm wat die C-H-strek (tweede oortoon) aandui (Leme *et al.*, 2018). Die negatiewe bande van PC3 is 980 en 1410 nm wat altwee met vog korreleer (Golic *et al.*, 2003; Mouazen & Al-Walaan, 2014); en 1000 nm is na aan 1003 nm wat volgens Williams *et al.* (2019) 'n N-H- aromatiese amienbinding is. 1340 nm in PC4 (**Fig. 4.5d-e**) val binne 1200-1450 nm wat O-H-, C-H- en C-H₂-deformasies is (Golic *et al.*, 2003). By 1500 nm is daar baie keer groot variasies, maar kan in dié geval aan vog toegeskryf word (Golic *et al.*, 2003; Williams *et al.*, 2019). Die een negatiewe band by PC4 is by 1630 nm en is 'n C-H-binding (eerste oortoon) wat aan glukose toegeskryf kan word.

Meerveranderlike data-analise

Parsiële kleinste kwadratediskriminantanalise (PLS-DA)

'n Oorsig van die algehele resultate van die tafelinstrument en handapparaat met beide voorstellingsmetodes word in **Tabel 4.1**, **4.2** en **4.3** en **Addendum B**, **Tabel B.1**, **B.2** en **B.3** weergegee.

Geen van die klassifikasie Modelle het 'n 100% klassifikasie-akkuraatheid bereik nie, maar van die tafelinstrument het model 4c [KS (EPO+DT)] 'n voorspellingsakkuraatheid van 73.33% gekry; en die handapparaat (Teflonkoppie) se twee Modelle, 2a [DUPLEX (EPO+SNV)] en 2b [DUPLEX (EPO+SNV+DT)], het 'n voorspellingsakkuraatheid van 79.63% en laastens die handapparaat

(glasflessie) se twee modelle, 4a [KS (EPO+SNV)] en 4d [KS (EPO+SG)], het 'n voorspellingsakkuraatheid van 76.67% gekry.

Vir die tafelinstrument het die dataskeidingsmetode van DUPLEX swakker modelle as Kennard-Stone (KS) gelewer. Dit was ook duidelik dat die gebruik van eksterne parameter-ortagonalisering (EPO) saam met verskeie kombinasies van voorafbehandelingstegnieke al die modelle van KS verbeter het met die uitsondering van model 3d [KS (SG)]. In dié geval het die gebruik van slegs Savitzky-Golay (SG) (model 3d [KS (SG)]) 'n beter klassifikasie van fynbos en 'ander' heuningmonsters as model 4d [KS (EPO+SG)] gelewer met 'n voorspellingsakkuraatheid van 70%. Alhoewel die latente veranderlikes (LV) getal van 9 redelik hoog is, word dit steeds as 'n beter model as 4d [KS (EPO+SG)] beskou omdat die kalibrasie-akkuraatheid van 4d [KS (EPO+SG)] 14.16% hoër is as die voorspellingsakkuraatheid wat aandui dat die model redelik baie oorpas. Die wanindelingkoers van model 3d [KS (SG)] is ook 3% laer as dié van model 4d [KS (EPO+SG)]. Die swakste model (1d [DUPLEX (SG)]) is vooraf met SG behandel en het 'n kalibrasie-akkuraatheid van 64.29% gekry, maar 'n voorspellingsakkuraatheid van 35.19% behaal wat 'n aanduiding is dat die model heeltemal oorpas is. Die 'klasvoorspelling mees waarskynlik' grafiek (**Addendum B, Fig. B.1a**) toon daar is 12 vals positiewes vir die fynbosklas en 23 vals positiewes vir die 'ander' klas, dus lewer die model 'n swak voorspellingsakkuraatheid. **Addendum B, Fig. B.1b** toon weer dat model 4c [KS (EPO+DT)] wat die beste klassifikasie gelewer het, slegs 7 vals positiewes vir die fynbosklas het en 9 vals positiewes vir die 'ander' klas.

Die handapparaat (Teflonkoppie) is die voorstellingsmetode wat die beste resultate gelewer het. In hierdie geval het die DUPLEX-dataskeidingsmetode ook beter resultate behaal. Die byvoeging van EPO as voorafbehandelingstegniek by die DUPLEX-modelle het die voorspellingsakkuraatheid van al die modelle verbeter en die wanindelingkoers verlaag, behalwe model 1c [DUPLEX (DT)] wat verswak het met 'n EPO-byvoeging van 68.52% na 61.11% (model 2c [DUPLEX (EPO+DT)]). Daar was 'n onverwagse teenoorgestelde effek by die KS-modelle waar die byvoeging van EPO slegs model 3d [KS (SG)], wat die swakste model was, verbeter het en die res verswak het. Modelle 2a [DUPLEX (EPO+SNV)] en 2b [DUPLEX (EPO+SNV+DT)] het presies dieselfde resultate gelewer, maar die verskil lê wel in die voorafbehandeling. In dié geval het DT nie 'n effek op die spektra gehad nie, aangesien die resultate onveranderd gebly het. Dus sal model 2a [DUPLEX (EPO+SNV)] die beter model wees omdat dit minder voorafbehandeling ondergaan het. Alhoewel hierdie die beste model gelewer het, is die voorspelling ten opsigte van akkuraatheid swakker as die kalibrasie-akkuraatheid wat beteken dat dit oorpas was. Tahir *et al.* (2016) het ook verskeie kombinasies van voorafbehandelingstegnieke toegepas en het gevind dat SNV die model weer heeltemal verswak het waar dit in hierdie geval weer in kombinasie met EPO die beste model gelewer het. By 'n ander studie is daar ook gevind dat standaard-normale veranderlike (SNV) die beste model gelewer het, maar dit is nie soos in hierdie studie in kombinasie met EPO gebruik nie (Woodcock *et al.*, 2007). Weereens, soos met die tafelinstrument, het die model met SG die swakste gevaar, maar in dié

geval is die data met KS geskei. In **Addendum B, Fig. B.2** kan die 'klasvoorspelling mees waarskynlik' gesien word as model 3d [KS (SG)] (swakste model) en 2a [DUPLEX (EPO+SNV)] (beste model).

KS het vir die handapparaat (glasflessie) soos vir die tafelinstrument beter modelle gelewer. Die swakste modelle, 2 [DUPLEX (EPO)] en 2c [DUPLEX (EPO+DT)] het dieselfde kalibrasie- en voorspellingsakkuraatheid gekry, maar weereens het tendensverwydering (DT) geen effek op die resultate gehad nie. Interessant is die feit dat model 4d [KS (EPO+SG)] wat met KS geskei is, 'n baie beter model as die 2d [DUPLEX (EPO+SG)] model is wat met DUPLEX geskei is. Dit is interessant omdat dieselfde voorafbehandelings tegnieke op die data toegepas is, maar toon 'n groot verskil in die voorspellingsakkuraatheid (model 2d: 57.41% teenoor model 4d: 76.67%). Alhoewel modelle, 4a [KS (EPO+SNV)] en 4d [KS (EPO+SG)] min of meer dieselfde resultate behaal het, is 4d [KS (EPO+SG)] steeds die beter model, aangesien die sensitiwiteit van die fynbosklas (model 4a [KS (EPO+SNV)]) 58.33% is wat redelik swak is teenoor dié van model 4d [KS (EPO+SG)] wat 4.17% hoër is. Die effek van EPO kan weereens gesien word by die KS-modelle waar dit al die resultate verbeter het, maar die teenoorgestelde effek by die DUPLEX-modelle gehad het. In **Addendum B, Fig. B.3** kan die klasvoorspelling heel waarskynlik gesien word vir model 2 [DUPLEX (EPO)] en 2c [DUPLEX (EPO+DT)] (swakste modelle) en 4a [KS (EPO+SNV)] en 4d [KS (EPO+SG)] (beste modelle).

In 'n onlangse studie deur Bisutti *et al.* (2019) is transfleksie soos hierbo gebruik om heuning volgens 4 botaniese klasse te klassifiseer. Die PLS-DA-algoritme is eers gebruik om die klassifikasie te bewerkstellig, maar dit was 'n mislukking. 'n Sensitiwiteit van 49% en spesifisiteit van 88.25% is gekry wat duidelik wys dat die model oorpas was. So 'n drastiese verskil in die sensitiwiteit en spesifisiteit is nie in hierdie studie van transfleksie (tafelinstrument) waargeneem nie, maar dit is opgelet dat daar wel 'n paar modelle was wat oorpas was. In al drie voorstellingsmetodes het die modelle hoë LV's gehad wat ook gevind is in 'n studie deur Tahir *et al.* (2016). Dit is as gevolg van die feit dat daar groot variasie tussen heuning van verskillende botaniese oorsprong was en dit komplekse assosiasies met NIR gehad het. Die gebruik van EPO het 'n groot verskil in die modelle se akkuraatheid gemaak. In 'n studie deur Preys *et al.* (2008) is voorafbehandelings tegnieke vergelyk om die effek van ligverspreiding te verwyder en is gevind dat EPO die effektiwste metode was. EPO word nie slegs gebruik vir ligverspreidingskorreksie nie, maar kan gebruik word om verskeie onbekende variasies wat in die spektra moontlik kan voorkom te verwyder. So maak dit sin dat EPO in hierdie geval die meeste van die modelle se akkuraatheid verbeter het.

Tabel 4.1 Oorsig van die PLS-DA-modelle se kalibrasie- en voorspellingsakkuraatheid resultate om die algehele vertoning van verskillende voorafbehandelings tegnieke van die tafelinstrument te assesseer.

Modelnommer	Voorafbehandeling	LV	Kalibrasie-akkuraatheid (%)	Voorspellingsakkuraatheid (%)
DUPLEX				
1a	SNV	7	66.67	59.26
1b	SNV + DT	7	66.67	61.11
1c	DT	5	66.67	53.70
1d	SG	4	64.29	35.19
2	EPO	6	72.22	68.52
2a	EPO + SNV	6	71.65	70.37
2b	EPO + SNV + DT	6	72.22	70.37
2c	EPO + DT	6	72.22	68.52
2d	EPO + SG	5	74.60	59.26
KS				
3a	SNV	5	67.50	63.33
3b	SNV + DT	5	66.67	63.33
3c	DT	5	61.67	66.67
3d	SG	9	79.17	70.00
4	EPO	5	71.67	70.00
4a	EPO + SNV	6	74.17	70.00
4b	EPO + SNV + DT	6	74.17	71.67
4c	EPO + DT	6	72.50	73.33
4d	EPO + SG	7	80.83	66.67

DT (tendensverwydering); EPO (eksterne parameter-ortagonalisering); KS (Kennard-Stone); LV (latente veranderlikes); P (voorspelling); SG (Savitzky-Golay); SNV (standaard-normale veranderlike)

Tabel 4.2 Oorsig van die PLS-DA-modelle se kalibrasie- en voorspellingsakkuraatheidresultate om die algehele vertoning van verskillende voorafbehandelings tegnieke van die handapparaat (Teflonkoppie) te assessseer.

Modelnommer	Voorafbehandeling	LV	Kalibrasie-akkuraatheid (%)	Voorspellingsakkuraatheid (%)
DUPLEX				
1a	SNV	9	84.92	72.22
1b	SNV + DT	9	87.30	70.37
1c	DT	5	72.22	68.52
1d	SG	1	53.38	50.00
2	EPO	5	76.19	68.52
2a	EPO + SNV	9	90.48	79.63
2b	EPO + SNV + DT	9	90.48	79.63
2c	EPO + DT	5	74.60	61.11
2d	EPO + SG	1	65.87	64.81
KS				
3a	SNV	4	76.67	61.67
3b	SNV + DT	4	80.00	61.67
3c	DT	2	67.50	60.00
3d	SG	1	52.50	45.00
4	EPO	2	70.83	60.00
4a	EPO + SNV	2	70.83	58.33
4b	EPO + SNV + DT	3	70.00	56.67
4c	EPO + DT	2	70.83	60.00
4d	EPO + SG	1	69.17	53.33

DT (tendensverwydering); EPO (eksterne parameter-ortagonalisering); KS (Kennard-Stone); LV (latente veranderlikes); P (voorspelling); SG (Savitzky-Golay); SNV (standaard-normale veranderlike)

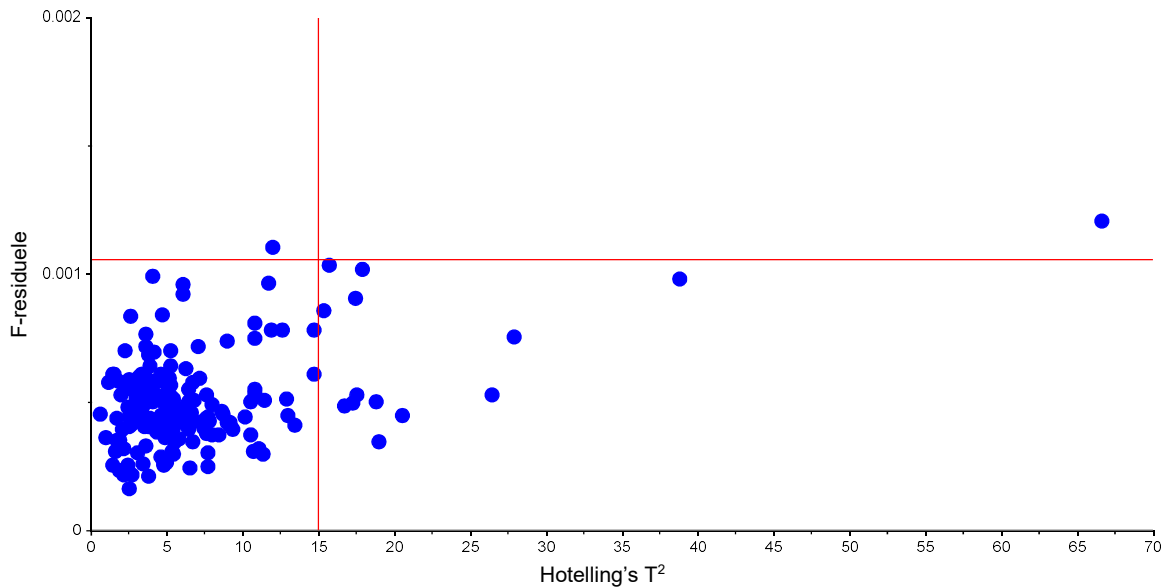
Tabel 4.3 Oorsig van die PLS-DA-modelle se kalibrasie- en voorspellingsakkuraatheidresultate om die algehele vertoning van verskillende voorafbehandelings tegnieke van die handapparaat (glasflessie) te assesser.

Modelnommer	Voorafbehandeling	LV	Kalibrasie-akkuraatheid (%)	Voorspellingsakkuraatheid (%)
DUPLEX				
1a	SNV	3	73.02	62.96
1b	SNV + DT	3	73.02	61.11
1c	DT	4	66.67	66.67
1d	SG	4	69.84	66.67
2	EPO	3	71.43	57.41
2a	EPO + SNV	3	69.83	59.26
2b	EPO + SNV + DT	3	72.22	59.26
2c	EPO + DT	3	71.43	57.41
2d	EPO + SG	2	66.67	57.41
KS				
3a	SNV	5	73.33	70.00
3b	SNV + DT	5	73.33	70.00
3c	DT	6	71.67	66.67
3d	SG	6	75.83	71.67
4	EPO	8	79.17	76.67
4a	EPO + SNV	4	68.33	76.67
4b	EPO + SNV + DT	4	68.33	75.00
4c	EPO + DT	4	63.33	75.00
4d	EPO + SG	2	63.33	76.67

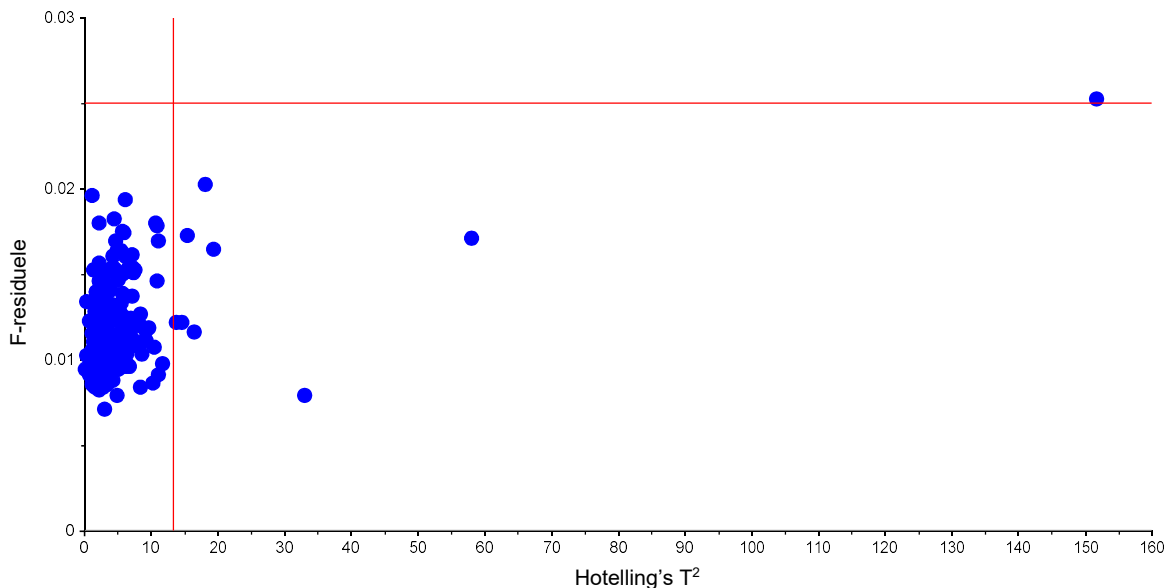
DT (tendensverwydering); EPO (eksterne parameter-ortagonalisering); KS (Kennard-Stone); LV (latente veranderlikes); P (voorspelling); SG (Savitzky-Golay); SNV (standaard-normale veranderlike)

Uitskieterverwydering

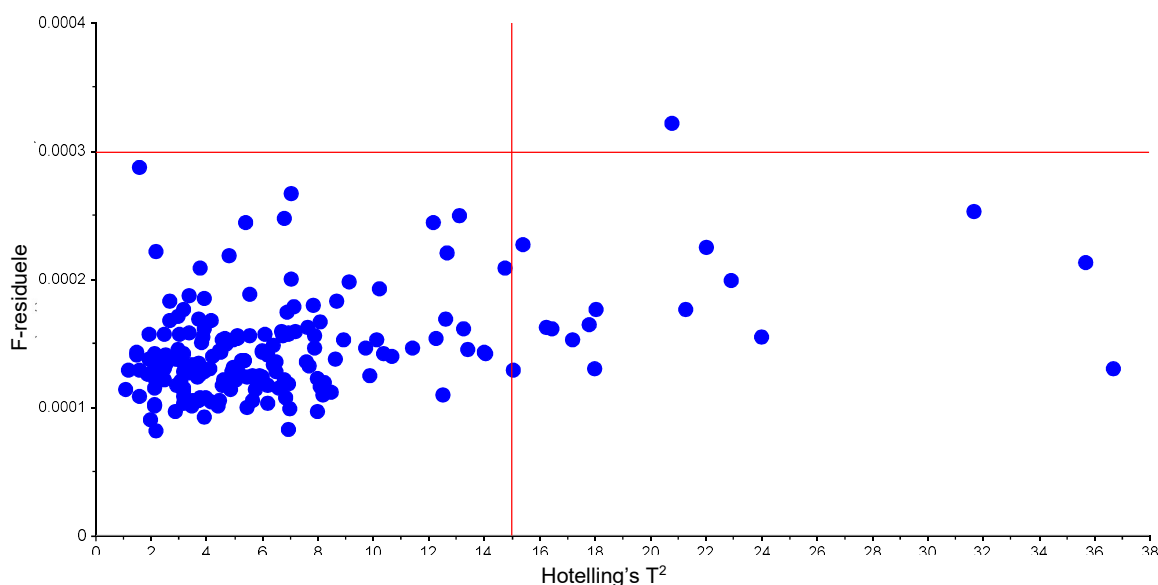
Onderstaande **Fig. 4.6**, **4.7** en **4.8** toon die invloedstippings van die tafelinstrument, handapparaat (Teflonkoppie) en handapparaat (glasflessie) respektiewelik aan. Die monsters in die boonste regterkantste kwadrant dui ware uitskieters aan wat van die monsterstel verwyder is. Monsters wat 'n hoë invloed gehad het, is ondersoek om te kyk of dit werklike uitskieters was voordat dit verwyder is.



Figuur 4.6 Invloedstipping van twee botaniese klasse voorafbehandel met EPO en DT van die tafelinstrument (dataskeiding met KS).



Figuur 4.7 Invloedstipping van twee botaniese klasse voorafbehandel met EPO en SNV van die handapparaat (Teflonkoppie) (dataskeiding met DUPLEX).



Figuur 4.8 Invloedstipping van twee botaniese klasse voorafbehandel met EPO en SG van die handapparaat (glasflessie) (dataskeiding met KS).

Ten opsigte van die tafelinstrument het die model met die uitskieterverwydering (USV) verswak. Die sensitiwiteit en spesifisiteit van die oorspronklike model (4C [KS (EPO+DT)]) in **Addendum B, Tabel B.1**, voor die USV uitgevoer is, het verswak (**Tabel 4.4**), en die wanindelingkoers van 26.67% tot 30% verhoog. Met hierdie opmerking kan daar afgelei word dat die monster wat verwyder is, wel nuttige inligting tot die model bygedra het. Die tellings en beladingstippings vir die herberekende model kan in **Addendum B, Fig. B.4** waargeneem word.

Die USV van die handapparaat (Teflonkoppie) het die oorspronklike model, 2a [DUPLEX (EPO+SNV)] (**Addendum B, Tabel B.2**) byna onveranderd gelaat (**Tabel 4.4**) wat beteken dat daardie monster nie 'n groot invloed op die model gehad het nie. **Addendum B, Fig. B.5** dui die herberekende model se tellings en beladingstippings aan. In die tellingstipping word daar twee nuwe uitskieters waargeneem, maar deur na die invloedstipping te kyk (**Addendum B, Fig. B.6**) kan mens sien dat dit nie in die boonste regterkwadrant val nie en dus nie 'n werklike uitskieter is nie, daarom word hierdie monsters nie van die datastel verwyder nie.

Laastens het die USV vir die handapparaat (glasflessie) die oorspronklike model, 4d [KS (EPO+SG)] (**Addendum B, Tabel B.3**) effens verswak. Die LV, die kalibrasie-akkuraatheid en die sensitiwiteit van die 'ander' klas het onveranderd gebly (**Tabel 4.4**), maar die sensitiwiteit vir die fynbosklas het na 58.33% verlaag. Daar was 'n groot verskil tussen die twee klasse se sensitiwiteite wat hierdie model nie baie robuus maak nie. Die tellings- en beladingstippings van die herberekende model kan in **Addendum B, Fig. B.7** gesien word.

Tabel 4.4 Die vertoning van die PLS-DA modelle van die twee botaniese klasse van die drie verskillende voorstellingsmetodes met uitskieters verwyder en golflengtes geselekteer.

Voorafbehandeling	LV	Klas	Sensitiwiteit _P (%)	Spesifisiteit _P (%)	Kalibrasie- akkuraatheid (%)	Voorspellings- akkuraatheid (%)	Wanindelingakoers (%)
Tafelinstrument							
KS							
EPO + DT	5	fynbos ander	68.18 71.05	69.62	73.11	70.00	30.00
Handapparaat (Teflonkopie)							
DUPLEX							
EPO + SNV	9	fynbos ander	76.00 82.14	79.07	90.48	79.25	20.75
Handapparaat (glasflessie)							
KS							
EPO + SG	2	fynbos ander	58.33 86.11	72.22	63.03	75.00	25.00

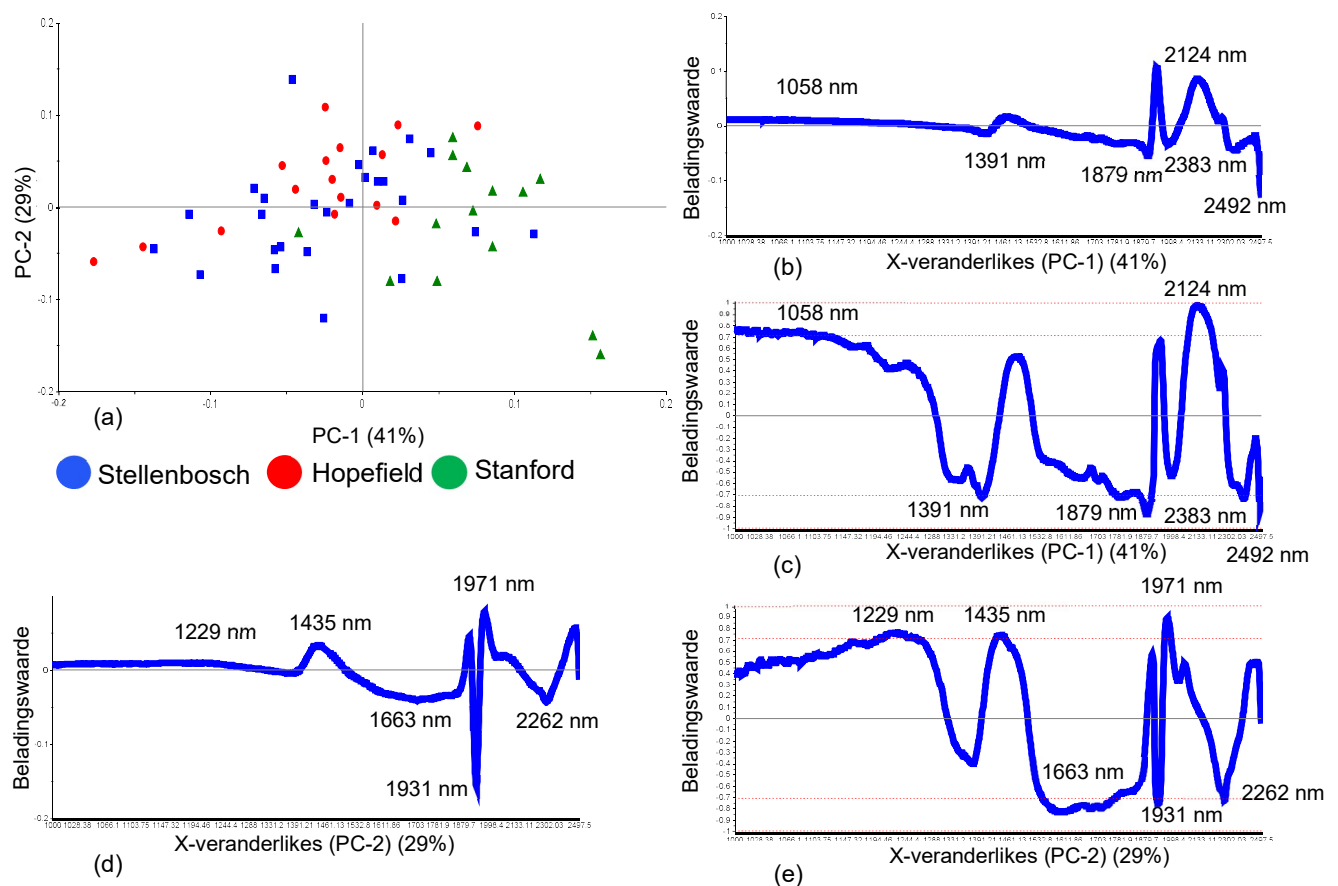
DT (tendensverwydering); EPO (eksterne parameter-ortagonalisering); KS (Kennard-Stone); LV (latente veranderlikes); P (voorspelling); SG (Savitzky-Golay); SNV (standaard-normale veranderlike); USV (uitskieter verwyder)

Geografies

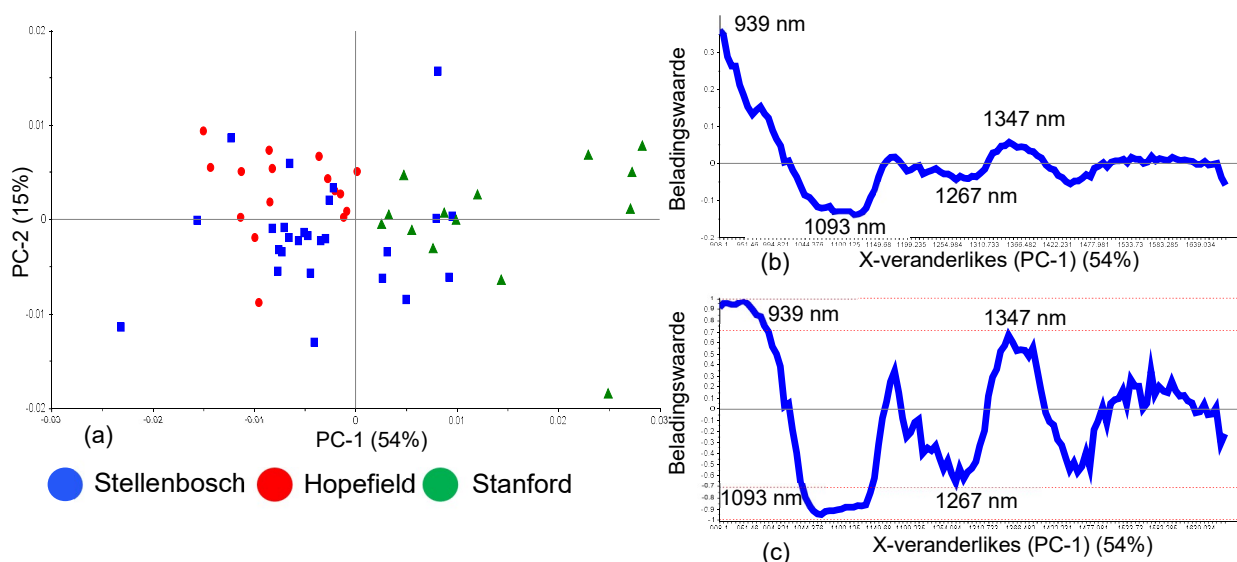
Verkennde data-analise

Hoofkomponentanalise (PCA)

PCA is gedoen om die kwalitatiewe verskille tussen Stellenbosch, Hopefield en Stanford heuningmonsters waar te neem in die PC-spasie. **Fig. 4.9** illustreer die PCA-resultate van die tafelinstrument, **Fig. 4.10**, van die handapparaat (Teflonkoppie) en **Fig. 4.11**, van die handapparaat (glasflessie).

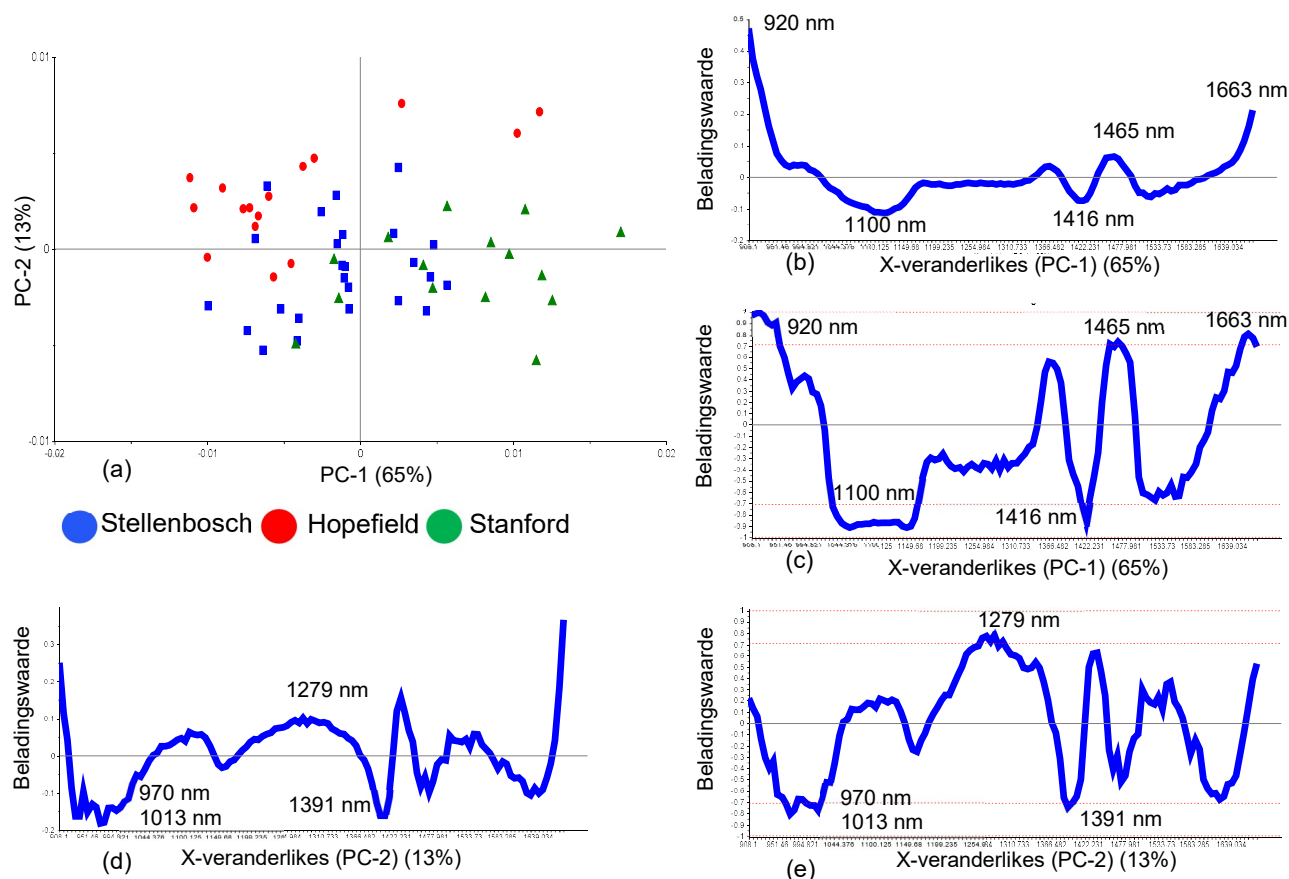


Figuur 4.9 PCA van Stellenboschklas (blou), Hopefieldklas (rooi) en Stanfordklas (groen) van die tafelinstrument. Beide PC1 en PC2 was nodig, maar redelike groot skeiding tussen Hopefield en Stanford. Tellings word gegee as (a) PCA-tellingstipping van PC1 (41%) vs. PC2 (29%). (b) PCA-beladingslynstipping en (c) korrelasiebeladingstipping vir PC1 met interpreteerbare bande by 1058, 1391, 1879, 2124, 2383 en 2492 nm; en (d) PCA-beladingslynstipping en (e) korrelasiebeladingstipping vir PC2 met interpreteerbare bande by 1229, 1435, 1663, 1931, 1971 en 2262 nm.



Figuur 4.10 PCA van Stellenboschklas (blou), Hopefieldklas (rooi) en Stanfordklas (groen) van die handapparaat (Teflonkopie). Duidelike skeiding tussen Hopefield en Stanford in PC1. Tellings word gegee as (a) PCA-tellingstipping van PC1 (54%) vs. PC2 (15%). (b) PCA-beladingslynstipping en (c) korrelasiebeladingsstipping vir PC1 met interpreteerbare bande by 939, 1093, 1267 en 1347 nm.

Die tafelinstrument (**Fig. 4.9a**) wys goeie skeiding tussen Hopefield en Stanford, maar Stellenbosch toon byna geen skeiding van die ander klasse nie. Die skeiding van Hopefield en Stanford is in PC1 en PC2 waar Hopefield effens meer positiewe en Stanford meer negatiewe tellings het. Die positiewe tellings gaan gepaard met die positiewe beladings en andersom vir die negatiewe tellings en beladings. In PC1 (**Fig. 4.9b-c**) is daar 'n band van tussen 1000 en 1116 nm met 1058 nm in die middel wat redelik na aan die water absorpsieband van 1044 nm lê (Golic *et al.*, 2003; Williams *et al.*, 2019). Hierdie water absorpsieband kan rond skuif afhangend van die tipe instrument wat gebruik word. By die ander positiewe beladingsband is daar 'n O-H- en 'n C-H-kombinasiestrek by 2124 nm (Latorre *et al.*, 2013). By die negatiewe bande is daar vier absorpsiebande waarvan twee, 1391 en 2383 nm, C-H-bindings is wat aan aromatiesse ringe gekoppel is (Williams *et al.*, 2019) en dan is die ander twee bande, 1879 en 2492 nm, O-H-, C-H- en CH₂-deformasies in die derde en tweede oortoon afsonderlik, wat suikers is (Golic *et al.*, 2003). By PC2 is daar ses bande en die eerste band by 1229 nm is 'n C-H-strek (tweede oortoon) (**Fig. 4.9d-e**). Daar is nog nog wat deurkom by 1435 nm wat wel verwag is, aangesien vog tussen 1434-1435 nm absorbeer (Woodcock *et al.*, 2007; Bázár *et al.*, 2016; Leme *et al.*, 2018). Die klein bietjie proteïene wat in heuning voorkom, is waargeneem by 1971 nm (Golic *et al.*, 2003). Glukose is twee keer by 1580 en 2262 nm waargeneem (Bázár *et al.*, 2016; Williams *et al.*, 2019). Die 1580 nm lê tussen 1573-1753 nm met 1663 nm in die middel van die band waar koolhidrate waargeneem word waarvan dan afgelei kan word dat dit glukose is. Water word ook by 1580 nm waargeneem, omdat die heuningmonsters met water verdun is (glukose opgelos in water). Laastens is daar 'n O-H-strek en deformasie by 1931 nm (Latorre *et al.*, 2013).



Figuur 4.11 PCA van Stellenboschklas (blou), Hopefieldklas (rooi) en Stanfordklas (groen) van die handapparaat (glasflessie). Beide PC1 en PC2 was nodig, maar redelike groot skeiding tussen Hopefield en Stanford. Tellings word gegee as (a) PCA-tellingstipping van PC1 (65%) vs. PC2 (13%). (b) PCA-beladingslynstipping en (c) korrelasiebeladingsstipping vir PC1 met interpreteerbare bande by 920, 1100, 1416, 1465 en 1663 nm; en (d) PCA-beladingslynstipping en (e) korrelasiebeladingsstipping vir PC2 met interpreteerbare bande by 970, 1013, 1279 en 1391 nm.

Met die handapparaat (Teflonkoppie) kan skeiding tussen Hopefield en Stanford waargeneem word in PC1 (**Fig. 4.10a**). Stellenbosch kan nie van die ander twee klasse onderskei word nie, maar die tellings is meer negatief as positief wat korreleer met die negatiewe beladings. Die eerste negatiewe belading is by 1093 nm (1044-1140 nm) wat sterk absorbeer (**Fig. 4.10b-c**). Hierdie band sowel as die 1267 nm-band is 'n C-H-strek (tweede oortoon) (Leme *et al.*, 2018) en volgens Golic *et al.* (2003) absorbeer sukrose by 1040 nm. Dus kan die eerste negatiewe beladingsband aan sukrose toegeken word. Die eerste positiewe beladingsband is aromatiese komponente in die heuningmonsters (Williams *et al.*, 2019) terwyl daar 'n swak absorpsieband van vog by 1347 nm is (Golic *et al.*, 2003; Bázár *et al.*, 2016).

Met die handapparaat (glasflessie) kan daar weereens tussen Hopefield en Stanford onderskei word in PC1 en PC2, maar Hopefield kan met hierdie apparaat van Stellenbosch ook onderskei word in PC1 en PC2 (**Fig. 4.11a**). In PC1 (**Fig. 4.11b-c**) is 'n absorpsie by 930 nm van sukrose verwag,

maar 920 nm in PC1 is redelik naby en kan dus aan sukrose toegeken word. Die vogband word verwag by 1465 nm. Volgens literatuur is daar 'n waterabsorpsieband by 1463 nm (Williams *et al.*, 2019), by 1460 nm is daar O-H-kombinasies (Woodcock *et al.*, 2007), by 1450 nm (O-H-absorpsieband in die eerste oortoon) (Mouazen & Al-Walaan, 2014) en tussen 1300-1600 nm is daar ook 'n O-H-strek wat redelik met verdunning van heuningmonsters kan verander volgens Bázár *et al.* (2016). Koolhidrate absorbeer by 1663 nm. Verder is die absorpsieband van 1100 nm (1056-1443 nm) 'n C-H-binding wat aan 'n aromatiese ring gebonde is (Leme *et al.*, 2018; Williams *et al.*, 2019). Dan absorbeer fruktose by 1416 nm wat volgens Bázár *et al.* (2016) tussen 1420 en 1440 nm absorbeer. PC2 het slegs een positiewe belading van 'n C-H-binding (tweede oortoon) by 1279 nm (**Fig. 4.11d-e**). Daar is twee dippe by 970 nm en 1013 nm. Die 970 nm-band is 'n O-H-strek (tweede oortoon) wat toegeskryf word aan vog (Golic *et al.*, 2003; Williams *et al.*, 2019). Die eintlike band vir vog is by 964 nm, maar die band kan redelik rondskuif van instrument tot instrument. Die tweede dip by 1013 nm is fruktose soos Golic *et al.* (2003) by 1012 nm bevind het. Laastens is daar 'n vogabsorpsieband by 1391 nm wat ook gesien kan word in Bázár *et al.* (2016) se studie.

Die rede waarom Stellenbosch so met beide Hopefield en Stanford oorvleuel, is omdat Hopefield meestal fynbos heuningmonsters lewer en Stanford meestal *Eukaliptus*-monsters, terwyl Stellenbosch se heuningmonsters 'n mengsel van verskeie fynbos- en *Eukaliptus*-spesies is. In al drie voorstellingsmetodes kan mens op die tellingstippings sien dat Stanford aan die regterkant van die stippling val. Escuredo *et al.* (2015) het 'n studie oor die botaniese oorsprong van heuning gedoen en gevind dat *Eukaliptus*-heuning ook aan daardie kant van die tellingstippling val. Hierdie feit versterk dus die afleiding dat Stanford se monsters meestal uit *Eukaliptus*-heuning bestaan en ook dat die botaniese oorsprong wel 'n baie belangrike invloed op die groepering van heuning op die PCAstippings het.

Meerveranderlike data-analise

Parsiële kleinste kwadrate-diskriminantanalise (PLS-DA)

'n Oorsig van die algehele resultate van die tafelinstrument en handapparaat met beide voorstellingsmetodes word in **Tabel 4.5**, **4.6** en **4.7** en **Addendum C**, **Tabel C.1**, **C.2** en **C.3** weergegee.

Weereens, soos die botaniese klassifikasie het nie een model 'n 100% klassifikasie-akkuraatheid bereik nie, maar sommige van die modelle het wel belowend gelyk. Vir die tafelinstrument het die effek van EPO sommige modelle verbeter en ander weer verswak. By model 2b [DUPLEX (EPO+SNV+DT)] kan daar gesien word dat die byvoeging van EPO die voorspellingsakkuraatheid onveranderd gelaat het, maar wel die kalibrasie-akkuraatheid van 65% na 87.5% verbeter het. Alhoewel dit verbeter het, is daar 'n drastiese verskil in die voorspelling en kalibrasie-akkuraatheid en dus is die model oorpas. By KS is die effek van EPO ook duidelik, alhoewel by die een model, (3b [KS (SNV+DT)]), verswak hierdie byvoeging van EPO die model heeltemal by die kalibrasie- en

voorspellingsakkuraatheid. Die swakste klassifikasie (model 3d [KS (SG)]) vir hierdie instrument het 'n baie lae voorspellingsakkuraatheid van 26.32% behaal met 'n kalibrasie-akkuraatheid van 70.27% wat wys dat die model heeltemal oorpas is. Met eerste oogopslag sal mens sê model 2d [DUPLEX (EPO+SG)] is die beste met 92.5% kalibrasie-akkuraatheid en 75% voorspellingsakkuraatheid, maar as daar dieper gekyk word, kan mens sien dat model 4 [KS (EPO)] beter is. Albei modelle is oorpas, maar model 4 [KS (EPO)] is minder oorpas en is sodoende meer robuus. In **Addendum C, Fig. C.1** kan die 'klasvoorspelling mees waarskynlik' gesien word vir modelle 3d [KS (SG)] (swakste model) en 4 [KS (EPO)] (beste model).

By die handapparaat (Teflonkoppie) se modelle is dit interessant dat een van die swakste modelle, (3c [KS (DT)]), se voorafbehandelingstegnieke een van die beste modelle (1c [DUPLEX (DT)]) gelewer het, maar met die verskil in hoe die data geskei is met DUPLEX en KS. Model 3c [KS (DT)] het ook 'n dramatiese hoë wanindelingkoers van 57.89%. Alhoewel model 1c [DUPLEX (DT)] 'n voorspellingsakkuraatheid van 87.5% het, het dit 'n swak kalibrasie-akkuraatheid van 67.50%. Model 2d [DUPLEX (EPO+SG)] is oorpas, maar het wel die beste model vir hierdie apparaat gelewer. In **Addendum C, Fig. C.2** kan die 'klasvoorspelling mees waarskynlik' gesien word vir model 3c [KS (DT)] (swakste model) en 2d [DUPLEX (EPO+SG)] (beste model).

KS het vir die handapparaat (glasflessie) beter modelle gelewer veral met die byvoeging van EPO. Oor die algemeen het die meeste van die modelle met DUPLEX en KS goeie kalibrasie-akkuraatde behaal met die uitsondering van model 1c [DUPLEX (DT)] wat ook oor die algeneem, saam met model 1d [DUPLEX (SG)], die swakste modelle gelewer het. Weereens is daar 'n patroon, soos die handapparaat (Teflonkoppie), waar die swakste modelle van DUPLEX (model 1c [DUPLEX (DT)] en 1d [DUPLEX (SG)]) ook swak modelle, (model 3c [KS (DT)] en 3d [KS (SG)]) by KS gelewer het met dieselfde voorafbehandelingstegnieke respektiewelik. Die beste model (4a [KS (EPO+SNV)]) het EPO en SNV as voorafbehandelingstegniek gehad wat 'n uitstekende kalibrasie-akkuraatheid van 94.59% het en 'n voorspellingsakkuraatheid van 84.21%. Hierdie is die beste model van al drie die voortellingsmetodes. Die model het drasties verbeter (van model 3a [KS (SNV)]) deur EPO by te voeg en weereens is die effek van EPO bewys. In **Addendum C, Fig. C.3** kan die 'klasvoorspelling mees waarskynlik' gesien word vir model 1c [DUPLEX (DT)] (swakste model) en 4a [KS (EPO+SNV)] (beste model).

Weereens soos by die botaniese klassifikasie kan dieselfde vergelyking met die literatuur gemaak word waar die gebruik van EPO 'n baie suksesvolle tegniek is om die data vooraf te behandel (Preys *et al.*, 2008), maar in hierdie geval van geografiese klassifikasie kon dit die variasie tussen die twee seisoene (November 2018 en Maart 2019) van heuninginsameling wees. Met 'n vorige studie wat heuning volgens geografiese oorsprong geklassifiseer het, is heuning van verskillende lande gebruik en was die klassifikasie sodoende suksesvol (Woodcock *et al.*, 2007). In hierdie studie is die heuning van dieselfde land wat dit dus moeiliker maak. Alhoewel die heuning van verskillende areas is, is daar baie faktore wat die heuning se chemiese samestelling beïnvloed (klimaat, weerpatrone, grond,

tipe plant en seisoen van wanneer heuning uit die korf gehaal word), dus sal dit verskil, maar weens dieselfde rede sal heuning wat van verskillende lande afkomstig is, juis 'n groter onderskeid toon (Francis & Gontier, 1982b). Daar moet ook daarop gelet word dat Woodcock *et al.* (2007) 292 monsters in sy studie gebruik het wat ook 'n beter model met beter akkuraatheid kan lewer.

'n Algemene patroon is opgelet by, nie net die geografiese klassifikasie nie, maar ook by die botaniese klassifikasie. KS is 'n beter dataskeidingsmetode vir die tafelinstrument en die handapparaat (glasflessie) terwyl DUPLEX beter vir die handapparaat (Teflonkoppie) is. Alhoewel hierdie spesifieke vergelyking nie in die literatuur van heuningnavorsing voorkom nie, kan daar steeds afleidings gemaak word. Die ooreenkoms tussen die tafelinstrument en die handapparaat (glasflessie) is dat die NIR-lig eers deur 'n laag glas beweeg voordat dit deur die heuningmonster beweeg teenoor die handapparaat (Teflonkoppie) waar die NIR-lig dadelik die heuningmonster binnedring met geen voorwerp tussenin nie. Die twee voorstellingsmetodes deel ook 'n ooreenkoms dat dit dieselfde padlengte van 1 mm gebruik teenoor die handapparaat (Teflonkoppie) wat 'n 0.9 cm padlengte het. Hierdie glaslaag het 'n glansende voorkoms wat ligverstrooiing kan laat plaasvind (Workman Jr. & Shenk, 2004). Volgens Beer se wet is daar 'n direkte en lineêre verhouding tussen die monsterkonsentrasie, padlengte en die absorpsie van lig by 'n spesifieke golflengte (Duckworth, 2004). Daar kan dus afgelei word dat hierdie twee ooreenkomste die spektrale data op so 'n wyse beïnvloed dat hul ook uit dieselfde dataskeidingsmetode voordeel trek.

Tabel 4.5 Oorsig van die PLS-DA-modelle se kalibrasie- en voorspellingsakkuraatheid resultate om die algehele vertoning van verskillende voorafbehandelings tegnieke van die handapparaat met die tafelinstrument te assesser.

Modelnommer	Voorafbehandeling	LV	Kalibrasie-akkuraatheid (%)	Voorspellingsakkuraatheid (%)
DUPLEX				
1a	SNV	5	65.00	50.00
1b	SNV + DT	5	65.00	50.00
1c	DT	4	65.00	50.00
1d	SG	7	80.00	62.50
2	EPO	5	92.50	62.50
2a	EPO + SNV	4	87.50	56.25
2b	EPO + SNV + DT	4	87.50	50.00
2c	EPO + DT	4	95.00	62.50
2d	EPO + SG	7	92.50	75.00
KS				
3a	SNV	5	75.68	47.37
3b	SNV + DT	5	75.68	52.63
3c	DT	2	64.86	36.84
3d	SG	3	70.27	26.32
4	EPO	5	86.49	73.68
4a	EPO + SNV	5	89.19	68.42
4b	EPO + SNV + DT	1	64.86	47.37
4c	EPO + DT	5	86.49	73.68
4d	EPO + SG	4	81.08	42.11

DT (tendensverwydering); EPO (eksterne parameter-ortagonalisering); KS (Kennard-Stone); LV (latente veranderlikes); P (voorspelling); SG (Savitzky-Golay); SNV (standaard-normale veranderlike)

Tabel 4.6 Oorsig van die PLS-DA-modelle se kalibrasie- en voorspellingsakkuraatheid resultate om die algehele vertoning van verskillende voorafbehandelings tegnieke van die handapparaat (Teflonkoppie) te assesseer.

Modelnommer	Voorafbehandeling	LV	Kalibrasie-akkuraatheid (%)	Voorspellingsakkuraatheid (%)
DUPLEX				
1a	SNV	6	80.00	62.50
1b	SNV + DT	6	80.00	62.50
1c	DT	6	67.50	87.50
1d	SG	5	72.50	50.00
2	EPO	4	85.00	56.25
2a	EPO + SNV	4	92.50	68.75
2b	EPO + SNV + DT	4	95.00	68.75
2c	EPO + DT	4	85.00	56.25
2d	EPO + SG	4	97.50	75.00
KS				
3a	SNV	5	89.19	57.89
3b	SNV + DT	5	81.08	57.89
3c	DT	2	54.05	42.11
3d	SG	3	70.27	36.84
4	EPO	2	83.78	47.37
4a	EPO + SNV	2	91.89	52.63
4b	EPO + SNV + DT	2	91.89	52.63
4c	EPO + DT	5	94.59	57.89
4d	EPO + SG	3	89.19	52.63

DT (tendensverwydering); EPO (eksterne parameter-ortagonalisering); KS (Kennard-Stone); LV (latente veranderlikes); P (voorspelling); SG (Savitzky-Golay); SNV (standaard-normale veranderlike)

Tabel 4.7 Oorsig van die PLS-DA-modelle se kalibrasie- en voorspellingsakkuraatheid resultate om die algehele vertoning van verskillende voorafbehandelings tegnieke van die handapparaat (glasflessie) te assesser.

Modelnommer	Voorafbehandeling	LV	Kalibrasie-akkuraatheid (%)	Voorspellingsakkuraatheid (%)
DUPLEX				
1a	SNV	4	75.00	62.50
1b	SNV + DT	4	75.00	62.50
1c	DT	3	62.50	43.75
1d	SG	4	70.00	43.75
2	EPO	4	87.50	56.25
2a	EPO + SNV	4	82.50	62.50
2b	EPO + SNV + DT	4	82.50	62.50
2c	EPO + DT	4	87.50	56.25
2d	EPO + SG	4	85.00	50.00
KS				
3a	SNV	4	75.68	63.16
3b	SNV + DT	4	75.68	63.16
3c	DT	4	70.27	52.63
3d	SG	6	86.49	47.37
4	EPO	7	94.59	73.68
4a	EPO + SNV	7	94.59	84.21
4b	EPO + SNV + DT	7	94.59	84.21
4c	EPO + DT	7	94.59	73.68
4d	EPO + SG	4	91.89	52.63

DT (tendensverwydering); EPO (eksterne parameter-ortagonalisering); KS (Kennard-Stone); LV (latente veranderlikes); P (voorspelling); SG (Savitzky-Golay); SNV (standaard-normale veranderlike)

Uitskieterverwydering

Daar was geen uitskieters van die geografiese monsterstel om te verwyder nie.

GEVOLGTREKKING

Beide die botaniese en geografiese analyses wys groot ooreenstemming in die PC-spasie. Die klein chemiese verskille in die heuningmonsters het dit wel moontlik gemaak om PLS-DA-modelle te bou om die verskillende heunings volgens hul botaniese en geografiese oorsprong te klassifiseer. Met die verskeie kombinasies van voorafbehandelingsmetodes wat gebruik is, is daar wel 'n patroon waar die gebruik van EPO die meerderheid van die modelle verbeter het. En so is daar ook 'n patroon wat gevolg het met die gebruik van DUPLEX en KS as dataselektiemetodes. DUPLEX het vir die handmodel (Teflonkopie) die beste gewerk in albei dele van die studie en KS vir die tafelinstrument en die handmodel (glasfles). Met die vergelyking van die drie instrumente wat gebruik is, is daar verwag dat die tafelinstrument die beste resultate sou lewer, aangesien dit die grootste golflengtereeks gebruik en meer stabiel is. Die teendeel is bewys en die handapparaat (glasfles) het die beste resultate gelever. Daar moet wel in ag geneem word dat daar met hierdie apparaat meer skanderings per monster gedoen is as met die ander twee apparate. Die rede hiervoor is dat die staaf binne die glasfles heeltyd beweeg het en die padlengte laat verskil het met elke skandering, dus moes daar veel meer data met die instrument ingesamel word sodat alle variasies van die monsters in ag geneem kon word. Om hierdie rede is hierdie instrument nie noodwendig die betroubaarste nie en dus is die handmodel (Teflonkopie) eintlik die voorstellingsmetode wat die beste modelle gelever het. Uit die resultate kan afgelei word dat daar 'n potensiaal is om die botaniese oorsprong van Suid-Afrikaanse heuning met NIR-spektroskopie te bepaal, maar daar moet 'n groter monsterstel ingesamel word en ook na ander klassifikasiemetodes gekyk word. Alhoewel die geografiese oorsprong volgens die resultate bepaal kon word, moet daar dieper gekyk word na waaruit die heuningmonsters bestaan en of 'n mens dit werklik onafhanklik van die botaniese oorsprong kan klassifiseer.

VERWYSINGS

- Bázár, G., Romvári, R., Szabó, A., Somogyi, T., Éles, V. & Tsenkova, R. (2016). NIR detection of honey adulteration reveals differences in water spectral pattern. *Food Chemistry*, **194**, 873–880.
- Bisutti, V., Merlanti, R., Serva, L., Lucatello, L., Mirisola, M., Balzan, S., Tenti, S., Fontana, F., Trevisan, G., Montanucci, L., Contiero, B., Segato, S. & Capolongo, F. (2019). Multivariate and machine learning approaches for honey botanical origin authentication using near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, **27**, 65–74.
- Chen, L., Wang, J., Ye, Z., Zhao, J., Xue, X., Heyden, Y. Vander & Sun, Q. (2012). Classification of

- Chinese honeys according to their floral origin by near infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, **135**, 338–342.
- Duckworth, J. (2004). Mathematical data preprocessing. In: *Near-Infrared Spectroscopy in Agriculture* (edited by C.A. Roberts, J. Workman Jr. & J.B. Reeves III). Pp. 115–132. Madison, USA: American Society of Agronomy, Crop Science of America, Soil Science of America.
- Esbensen, K.H., Guyot, D., Westad, F. & Houmoller, L.P. (2002). Principal Component analysis (PCA) - introduction. In: *Multivariate Data Analysis - In Practice*. Pp. 19–74. Aspen, USA: Camo Software AS.
- Escuredo, O., González-Martín, M.I., Rodríguez-Flores, M.S. & Seijo, M.C. (2015). Near infrared spectroscopy applied to the rapid prediction of the floral origin and mineral content of honeys. *Food Chemistry*, **170**, 47–54.
- Francis, C. & Gontier, F. (1982). Honey as medicine and cosmetics. In: *The Book of Honey*. Pp. 26–29. Cape Town, South Africa: Howard Timmins Ltd.
- Golic, M., Walsh, K. & Lawson, P. (2003). Short-wavelength near-infrared spectra of sucrose, glucose, and fructose with respect to sugar concentration and temperature. *Applied Spectroscopy*, **57**, 139–145.
- Latorre, C.H., Crecente, R.M.P., Martín, S.G. & García, J.B. (2013). A fast chemometric procedure based on NIR data for authentication of honey with protected geographical indication. *Food Chemistry*, **141**, 3559–3565.
- Leme, L.M., Rocha Montenegro, H., Rocha dos Santos, L. da, Sereia, M.J., Valderrama, P. & Março, P.H. (2018). Relation between near-infrared spectroscopy and physicochemical parameters for discrimination of honey samples from jatai weyrauchi and jatai angustula bees. *Food Analytical Methods*, **11**, 1944–1950.
- Mouazen, A.M. & Al-Walaan, N. (2014). Glucose adulteration in saudi honey with visible and near infrared spectroscopy. *International Journal of Food Properties*, **17**, 2263–2274.
- Naila, A., Flint, S.H., Sulaiman, A.Z., Ajit, A. & Weeds, Z. (2018). Classical and novel approaches to the analysis of honey and detection of adulterants. *Food Control*, **90**, 152–165.
- Pasquini, C. (2003). Near infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **14**, 198–219.
- Payne, K. (2019). *Rapid differentiation of South African game meat using portable near-infrared (NIR) spectroscopy*. [Masters Thesis] South Africa: Stellenbosch University.
- Preys, S., Roger, J.M. & Boulet, J.C. (2008). Robust calibration using orthogonal projection and experimental design. Application to the correction of the light scattering effect on turbid NIR spectra. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, **91**, 28–33.

- Tahir, H.E., Xiaobo, Z., Tinting, S., Jiyong, S. & Mariod, A.A. (2016). Near-infrared (NIR) spectroscopy for rapid measurement of antioxidant properties and discrimination of sudanese honeys from different botanical origin. *Food Analytical Methods*, **9**, 2631–2641.
- Williams, P., Antoniszyn, J. & Manley, M. (2019). *Near-infrared technology: getting the best out of light. African Dun*. 1st edn. African Sun Media.
- Woodcock, T., Downey, G., Kelly, J.D. & O'Donnell, C. (2007). Geographical classification of honey samples by near-infrared spectroscopy: A feasibility study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 9128–9134.
- Workman Jr., J. & Shenk, J. (2004). Understanding and using the near-infrared spectrum as an analytical method. In: *Near-Infrared Spectroscopy in Agriculture* (edited by C.A. Roberts, J. Workman Jr. & J.B. Reeves III). Pp. 3–10. Madison, USA: American Society of Agronomy, Crop Science of America, Soil Science of America.

HOOFSTUK 5

ALGEMENE BESPREKING EN GEVOLGTREKKING

Heuningtipes verskil van mekaar in eienskappe waar die botaniese en geografiese oorsprong die grootste invloed het, en so kan dit die prys van die heuning ook beïnvloed (Salonen & Julkunen-Tiitto, 2012; Latorre *et al.*, 2013). Dit is dus belangrik om te weet wat die oorsprong van die heuning is. Die tradisionele metode om die botaniese en geografiese oorsprong te bepaal is met 'n heuning-palinologiese analise wat baie tydrowend is en 'n deskundige benodig (Louveaux *et al.*, 1978). Suid-Afrika het nie die geakkrediteerde laboratoriums om hierdie toetse uit te voer nie en so is daar nooit sekerheid van die oorsprong van heuning in Suid-Afrika nie. Die doel van hierdie studie was om 'n vinnige en maklike metode te ontwikkel om die botaniese- en geografiese oorsprong van Suid-Afrikaanse heuning te bepaal om die tradisionele metode wat so tydrowend en moeisaam is te vervang.

Naby-infrarooi(NIR)-spektroskopie is met 'n meerveranderlike data-analise gekombineer om die botaniese- en geografiese oorsprong van Suid-Afrikaanse heuning vinnig te identifiseer. Verskeie studies is al in die buiteland gedoen en het bewys dat dit wel moontlik is, maar omdat heuningtipes verskil, sal die reeds geboude modelle nie vir Suid-Afrikaanse heuning werk nie (Woodcock *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2012; Latorre *et al.*, 2013; Escuredo *et al.*, 2015; Tahir *et al.*, 2016; Bisutti *et al.*, 2019). Slegs een studie oor Suid-Afrikaanse heuning is al gedoen waar daar sekere eksperimentele tekortkominge in die studie was (Guelpa *et al.*, 2017). Die monsters is by kamertemperatuur in 'n stoorkamer geberg vir meer as vier jaar nadat dit ingesamel is. Deurdat die monsters nie tydens hierdie tyd in 'n yskas geberg was nie, het dit verouder (Townsend, 1976). Die monsters is ook met 'n temperatuur (55°C) wat te hoog was, behandel om die kristalle op te los voordat dit met die spektrofotometer geskandeer is, en by hierdie temperatuur vind daar chemiese veranderinge in die heuning plaas. Die gebrek aan die regulering van temperature wat in die studie plaasgevind het, kon die spektrale data beïnvloed het en kan gesien word as 'n eksperimentele fout. Nog 'n tekortkoming van die studie was dat die monsters van die rakke af gekoop is en daar dus nie sekerheid was watter prosessering (hoëtemperatuurbehandelings, filtrasie of vervalsing) die monsters ondergaan het nie. By 'n hele paar ander studies is daar misluk om die totale oplosbare vaste stowwe (TSS) te standaardiseer (Chen *et al.*, 2012; Escuredo *et al.*, 2013, 2015; Latorre *et al.*, 2013; Bázár *et al.*, 2016; Tahir *et al.*, 2016; Leme *et al.*, 2018; Bisutti *et al.*, 2019). Deur dit nie te doen nie, sluit dit 'n variasie tussen monsters in wat die risiko daarstel dat die monsters volgens hul vog verskillend geklassifiseer kan word wat nie die doel van die studie is nie.

Om die bogenoemde eksperimentele foute te oorkom is daar baie aandag aan die insameling van die heuningmonsters gegee. Baie van die monsters is direk vanuit die byekorff verkry, ander is van byeboere ontvang en enkele is gekoop om te verseker dat dit nie hittebehandelings, filtrasie of vervalsing ondergaan het nie. Die monsters is by 4°C gestoor wat die meeste chemiese veranderinge verhoed het (Townsend, 1976; Jiménez *et al.*, 1994). Om die kristalle op te los voor

verdere monstervoorbereiding is die monsters slegs tot by 40°C in 'n inkubator verhit. Om die variasie van vog uit te sluit is die TSS tydens monstervoorbereiding na 70°Brix aangepas. Hierdie studie is bewerkstellig met drie verskillende voorstellingsmetodes: die tafelinstrument; die handmodel (Teflonkoppie); en die handmodel (glasflessie). Die tafelinstrument bied 'n wyer golflengtereeks van 1100-2500 nm teenoor die handmodel wat 'n reeks van 950-1650 nm het. Die verskil in die golflengtereeks kan belangrike inligting oor die heuning bied.

In die eerste deel van die studie was die doel om die heunings volgens hul botaniese oorsprong te klassifiseer met elke enkelblomsoort as 'n aparte klas. Dit was ongelukkig onsuksesvol weens die klein getal monsters per klas. Die hoeveelheid klasse is verminder en daar is slegs tussen die twee klasse, fynbos en 'ander' heuning onderskei. 'n Hoofkomponentanalise (PCA) is gebou en soos in vorige studies is daar 'n groot oorvleueling van die botaniese klasse gevind (Chen *et al.*, 2012; Escuredo *et al.*, 2015). Alhoewel daar swak skeiding by al drie die voorstellingsmetodes gevind is, het die tafelinstrument die beste skeiding in die rigting van beide PC2 en PC3 getoon. Die beladings het getoon dat die skeiding van die twee klasse van die tafelinstrument eers vanaf die golflengte, 1930 nm plaasgevind het. Hierdie golflengtereeks val buite dié van die handinstrument wat wys dat daardie addisionele golflengtes waarde dra tot die skeiding van die klasse op die PCA-tellingstipping. Verskeie meerveranderlike data-analisemetodes is oorweeg vir die klassifikasie van die botaniese monsters en daar is spesifiek na sagte onafhanklike modellering van klas-analogie (SIMCA) en partiële kleinste kwadratiskriminantanalise (PLS-DA) gekyk (Wold & Sjöström, 1977; Barker & Rayens, 2003). Daar is besluit om nie met SIMCA te werk nie, aangesien die model gebruik is om die klasse te skei met behulp van hul hoofkomponente, en deur na die PCA-stippings te kyk is daar baie swak skeiding wat dus die gebruik van SIMCA nie moontlik maak nie. PLS-DA is dus gekies om as klassifikasiemodel te gebruik.

Verskeie kombinasies van voorafbehandelingsstegnieke is gebruik om vele modelle te bou. Alhoewel die tafelinstrument die beste skeiding in die PCA-tellingstipping getoon het, het dit nie die beste klassifikasie van fynbos- en 'ander' heuning gelewer nie. Die beste model, (2a [DUPLEX (EPO+SNV)]), is met die handmodel (Teflonkoppie) getoets wat 'n validasie-akkuraatheid van 79.63% behaal het, maar daar is 9 latente veranderlikes (LV) gebruik wat die model nie so robuus maak nie. Die verwydering van uitskieters by die tafelinstrument en die handmodel (glasflessie) het die modelle verswak waar die wanindelingsskoers in al die gevalle verhoog het en die vals positiewes vermeerder het. Met die handmodel (Teflonkoppie) met die uitskieterverwydering (USV) is die klassifikasie van fynbos- en 'ander' heuning basies onveranderd gelaat. Die gebruik van PLS-DA om die heuning volgens die botaniese oorsprong te klassifiseer was onsuksesvol soos Bisutti *et al.* (2019) ook bevind het. Steeds kan mens sien dat dit wel moontlik is om Suid-Afrikaanse heuning met NIR-spektroskopie te klassifiseer volgens die botaniese oorsprong, maar die monsterstel moet vergroot word om meer akkurate modelle te lewer.

Die tweede gedeelte van die studie was om die heunings volgens hul geografiese oorspronge te klassifiseer. Die skeiding van klasse op die PCA-tellingstippings het beter skeiding getoon as dié van die botaniese klasse, en die handapparaat (glasflessie) het dié keer die beste skeiding van die drie klasse getoon. Daar was wel 'n patroon wat in al drie van die PCA-stippings van die verskillende voorstellingsmetodes was waar die Stellenboschklas oorvleuel het met Hopefield en Stanford. Die monsters van die klasse (Hopefield, Stanford en Stellenbosch) is ondersoek en daar is gevind dat die Stellenboschmonsters 'n mengsel van fynbos en *Eukaliptus* was, Hopefield het meestal uit fynbosmonsters bestaan en Stanford het meestal *Eukaliptus*-monsters bevat. Alhoewel die doel was om die klasse onafhanklik van die botaniese oorsprong te onderskei kan daar afgelei word dat die botaniese oorsprong wel 'n belangrike invloed het.

Die beste PLS-DA-model is met die handapparaat (glasflessie) wat 'n kalibrasie-akkuraatheid van 94.59% en 'n voorspellingakkuraatheid van 84.21% behaal het, gelewer. Daar was geen uitskieters in die geografiese data nie en dus is daar geen verdere modelle gebou nie. Uit die bogenoemde opmerkings kan daar afgelei word dat, alhoewel die resultate goed lyk, daar nie tussen die geografiese oorspronge onderskei kan word nie. Die onderskeid lê eintlik in die botaniese oorsprong, om tussen *Eukaliptus*- en fynbosheuning te kan onderskei. 'n Vorige studie deur Woodcock *et al.* (2007) kon wel onderskei tussen geografiese oorspronge van heuning, maar dit was heuning van verskillende lande wat die verskil van heuning baie meer drasties gemaak het as van heuning van dieselfde provinsie soos in hierdie studie nagevors is.

Voorafbehandelings tegnieke het 'n groot invloed op hoe goed 'n modelklassifikasie van klasse kan wees. Met die bou van modelle in hierdie studie is daar verskeie kombinasies van voorafbehandelings tegnieke op die data toegepas, en daar is gevind dat eksterne parameter-ortagonalisering (EPO) die beste klassifikasie modelle by beide die botaniese- en geografiese oorspronge gelewer het. Die gebruik van EPO is wel 'n moeilike tegniek om uit te voer en is heel waarskynlik die rede hoekom dit nog nie wyd in die veld gebruik word nie, maar soos die resultate toon, is dit 'n baie waardevolle manier om die data te behandel. By beide die eerste en tweede gedeeltes van die studie is daar twee maniere gebruik by die dataskeiding vir die bou van 'n kalibrasie- en 'n validasiestel, naamlik, Kennard-Stone en DUPLEX. Daar is 'n patroon wat gevolg het dat die gebruik van Kennard-Stone, om die data te skei van die tafelinstrument en die handmodel (glasflessie), beter modelle gelewer het, en by die handmodel (Teflon koppie), DUPLEX die beter metode is. Met die tafelinstrument en die handmodel (glasflessie) is daar meer ligverstrooiing wat plaasvind as gevolg van die feit dat die NIR-lig eers 'n glaslaag moet deurdring voordat dit by die monsters uitkom, en so ook deel dit die ooreenkomste van dieselfde padlengte wat direk 'n invloed op die spektrale data het (Duckworth, 2004; Workman Jr. & Shenk, 2004).

'n Beperking van die studie is dat daar baie klem gelê is op die insameling van egte ongeprosesseerde monsters wat dit moeilik gemaak het om werklik 'n groot monsterstel bymekaar te kon maak. Met die insameling van monsters wat direk van korwe verkry is, kon daar nie altyd in

oorsprong monster geneem word nie. Indien daar 'n paar korwe in dieselfde gebied langs mekaar staan, help dit nie om 'n monster van elke korf te neem nie, want die voerbronne (plantegroei) is dieselfde, daarom is die heuning van die korwe langs mekaar dieselfde. Dus is daar slegs een monster geneem van 'n area al was daar soms meer as een korf. Indien 'n monster van elke korf wat langs mekaar staan, geneem sou word, sou dit die getal monsters vermeerder het, maar nie die inligting vermeerder het nie. Dit is wel belangrik om die aard van die monster te weet omdat dit die verstaan van die data makliker maak. Die monsterstel kan vergroot word deur net deur die loop van 'n paar seisoene van elke enkelblomsoort nog monsters te kry. Nog 'n rede vir die klein aantal monsters in hierdie studie was die tekortkoming van fondse. Die meeste van die monsters is ontvang deur middel van skenkings van die byboere en is so beperk deur die hoeveelheid boere wat kon skenk. Deur meer monsters van verskillende seisoene by die model te voeg word die variasie van elke botaniese soort asook geografiese areas groter wat dus 'n beter en meer realistiese voorstelling van elke klas sal wees, aangesien daar so baie faktore is wat heuning kan beïnvloed soos: blombron; die weer; grondtipe en seisoen (Francis & Gontier, 1982a; Alvarez-Suarez *et al.*, 2014). Met die groei van data word daar voorgestel dat daar vir die botaniese klassifikasie nie net tussen die fynbos- en 'ander' klasse onderskei word nie, maar tussen alle individuele botaniese soorte. Om 'n chemiese analise van die monsters te doen sal meer in diepte verduidelikings verseker om presies te weet op watter basis die heuningmonsters op die PCA-tellingstippings groepeer/skei en kan ook as verwysingswaardes dien wanneer modelle gebou word wat so ook meer akkurate modelle kan lewer. 'n Addisionele voorstel is, indien die monsterstel vergroot word, 'n chemiese analise gedoen word en as PLS-DA steeds nie werk nie dan eers na masjienleertegnieke te kyk en meer spesifiek na terug-propagasië-kunsmatige neurale netwerke (BP-ANN) (Rumelhart *et al.*, 1986) wat moontlik beter klassifikasie modelle kan bou (Marini, 2009; Chen *et al.*, 2012, 2014b). Hierdie algoritme is deur navorsers gebruik vir die botaniese klassifikasie van heuning en het beter resultate gelever as vorige algoritmes wat hul gebruik het, maar dit is wel 'n meer komplekse metode van klassifikasie, dus word voorgestel dat hierdie slegs toegepas word indien PLS-DA nie werk nie (Chen *et al.*, 2012, 2014b). Met hierdie studie is daar gesien (veral by die PCA-stippings) dat daar binne fynbosheuning wel 'n groot variasie is. Fynbos is 'n boom op sy eie en volgens die geografiese PCA-stippings is dit duidelik dat waar daardie monster saamgegroepeer is, daar wel baie variasie by die botaniese PCA-stippings is, dus word daar voorgestel dat meer fokus op fynbosheuning alleen geplaas word (du Preez, 2014).

Om op te som bied NIR-spektroskopie 'n vinnige, goedkoop metode wat gebruik kan word sonder die hulp van 'n deskundige. Met die handapparaat kan die monsters op enige plek getoets word, aangesien die toestel mobiel is teenoor die tafelinstrument wat slegs in 'n laboratorium gebruik kan word. Deur die oorsprong van Suid-Afrikaanse heuning te bepaal kan dit verseker word dat heuning korrek gemerk en geprys word. Die gebruik van EPO as voorafbehandelings tegniek is van waarde, aangesien dit die beste klassifikasie modelle gelever het. Die klassifikasie van die botaniese oorsprong van Suid-Afrikaanse heuning is moontlik indien meer monsters per klas ingesamel word

en 'n chemiese analise vir verwysingswaardes gebruik kan word. Die geografiese oorsprong kon nie bepaal word nie, aangesien die klassifikasie eerder ten opsigte van die botaniese oorsprong is, wat dus bewys dat botaniese oorspronge wel met NIR-spektroskopie bepaal kan word.

VERWYSINGS

- Alvarez-Suarez, J.M., Gasparri, M., Forbes-Hernández, T.Y., Mazzoni, L. & Giampieri, F. (2014). The composition and biological activity of honey: A focus on manuka honey. *Foods*, **3**, 420–432.
- Barker, M. & Rayens, W. (2003). Partial least squares for discrimination. *Journal of Chemometrics*, **17**, 166–173.
- Bázár, G., Romvári, R., Szabó, A., Somogyi, T., Éles, V. & Tsenkova, R. (2016). NIR detection of honey adulteration reveals differences in water spectral pattern. *Food Chemistry*, **194**, 873–880.
- Bisutti, V., Merlanti, R., Serva, L., Lucatello, L., Mirisola, M., Balzan, S., Tenti, S., Fontana, F., Trevisan, G., Montanucci, L., Contiero, B., Segato, S. & Capolongo, F. (2019). Multivariate and machine learning approaches for honey botanical origin authentication using near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, **27**, 65–74.
- Chen, H., Fan, C., Chang, Q., Pang, G., Hu, X., Lu, M. & Wang, W. (2014). Chemometric determination of the botanical origin for Chinese honeys on the basis of mineral elements determined by ICP-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **62**, 2443–2448.
- Chen, L., Wang, J., Ye, Z., Zhao, J., Xue, X., Heyden, Y. Vander & Sun, Q. (2012). Classification of Chinese honeys according to their floral origin by near infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, **135**, 338–342.
- Duckworth, J. (2004). Mathematical data preprocessing. In: *Near-Infrared Spectroscopy in Agriculture* (edited by C.A. Roberts, J. Workman Jr. & J.B. Reeves III). Pp. 115–132. Madison, USA: American Society of Agronomy, Crop Science of America, Soil Science of America.
- Escuredo, O., González-Martín, M.I., Rodríguez-Flores, M.S. & Seijo, M.C. (2015). Near infrared spectroscopy applied to the rapid prediction of the floral origin and mineral content of honeys. *Food Chemistry*, **170**, 47–54.
- Escuredo, O., Seijo, M.C., Salvador, J. & González-Martín, M.I. (2013). Near infrared spectroscopy for prediction of antioxidant compounds in the honey. *Food Chemistry*, **141**, 3409–3414.
- Francis, C. & Gontier, F. (1982). What is honey. In: *The Book of Honey*. Pp. 9–12. Cape Town, South Africa: Howard Timmins Ltd.
- Guelpa, A., Marini, F., Plessis, A. du, Slabbert, R. & , Marena, M. (2017). Verification of authenticity and fraud detection in South African honey using NIR spectroscopy. *Food Control*, **73**, 1388–

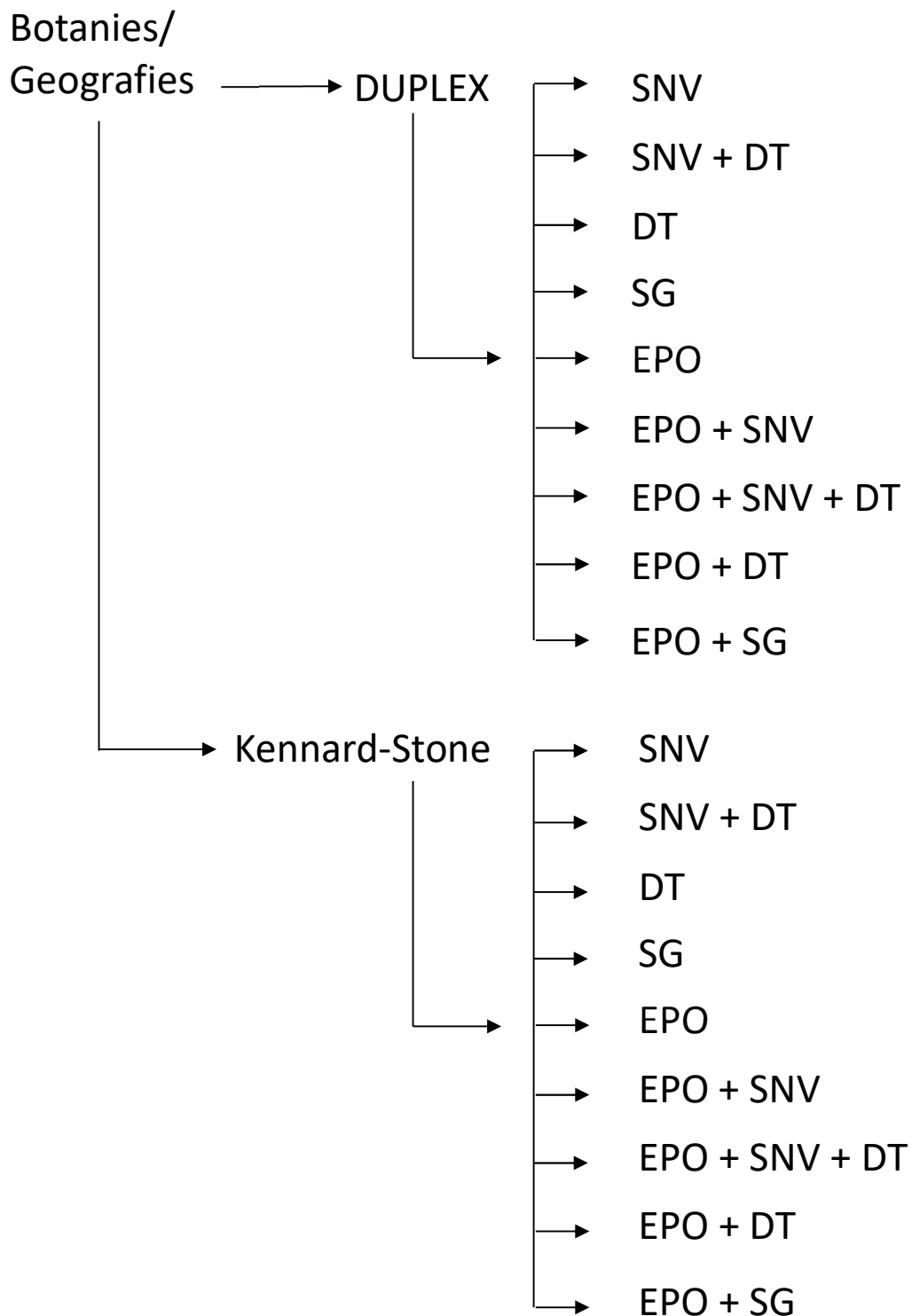
1396.

- Jiménez, M., Mateo, J.J., Huerta, T. & Mateo, R. (1994). Influence of the storage conditions on some physicochemical and mycological parameters of honey. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **64**, 67–74.
- Latorre, C.H., Crecente, R.M.P., Martín, S.G. & García, J.B. (2013). A fast chemometric procedure based on NIR data for authentication of honey with protected geographical indication. *Food Chemistry*, **141**, 3559–3565.
- Leme, L.M., Rocha Montenegro, H., Rocha dos Santos, L. da, Sereia, M.J., Valderrama, P. & Março, P.H. (2018). Relation between near-infrared spectroscopy and physicochemical parameters for discrimination of honey samples from jatai weyrauchi and jatai angustula bees. *Food Analytical Methods*, **11**, 1944–1950.
- Louveaux, J., Maurizio, A. & Vorwohl, G. (1978). Methods of melissopalynology. *Bee World*, **59**, 139–157.
- Marini, F. (2009). Artificial neural networks in foodstuff analyses: Trends and perspectives A review. *Analytica Chimica Acta*, **635**, 121–131.
- Preez, F. du. (2014). Fynbos honey - pride of South Africa's cape floristic kingdom. *Bee World*, **91**, 16–18.
- Rumelhart, D.E., Hinton, G.E. & Williams, R.J. (1986). Learning representations by back-propagating errors. *Nature*, **323**, 533–536.
- Salonen, A. & Julkunen-Tiitto, R. (2012). Characterisation of two unique unifloral honeys from the boreal coniferous zone: Lingonberry and mire honeys. *Agricultural and Food Science*, **21**, 159–170.
- Tahir, H.E., Xiaobo, Z., Tinting, S., Jiyong, S. & Mariod, A.A. (2016). Near-infrared (NIR) spectroscopy for rapid measurement of antioxidant properties and discrimination of sudanese honeys from different botanical origin. *Food Analytical Methods*, **9**, 2631–2641.
- Townsend, G.F. (1976). Processing and storing liquid honey. In: *Honey: A Comprehensive Survey* (edited by E. Crane). Pp. 207–239. London, England: William Heinemann Ltd.
- Wold, S. & Sjöström, M. (1977). SIMCA: a method for analyzing chemical data in terms of similarity and analogy. In: *Chemometrics: Theory and Application* (edited by B.R. Kowalski). Pp. 243–282. Washington: ACS Symposium Series.
- Woodcock, T., Downey, G., Kelly, J.D. & O'Donnell, C. (2007). Geographical classification of honey samples by near-infrared spectroscopy: A feasibility study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 9128–9134.
- Workman Jr., J. & Shenk, J. (2004). Understanding and using the near-infrared spectrum as an

analytical method. In: *Near-Infrared Spectroscopy in Agriculture* (edited by C.A. Roberts, J. Workman Jr. & J.B. Reeves III). Pp. 3–10. Madison, USA: American Society of Agronomy, Crop Science of America, Soil Science of America.

ADDENDUM A

ADDISIONELE INLIGTING MET BETREKKING TOT HOOFSTUK 3



Figuur A.1 Model ontwikkeling vir botaniese en geografiese klassifikasie.

ADDENDUM B**ADDISIONELE INLIGTING MET BETREKKING TOT HOOFSTUK 4 (BOTANIESE KLASSIFIKASIE)****Tabel B.1** Die vertoning van die PLS-DA-modelle van verskillende voorafbehandelings tegnieke vir botaniese klassifikasie van die tafelinstrument.

Modelnommer	Voorafbehandeling	LV	Klas	Sensitiwiteit _P (%)	Spesifisiteit _P (%)	Kalibrasie- akkuraatheid (%)	Voorspellings- akkuraatheid (%)	Wanindelingakoers (%)
Duplex								
1a	SNV	7	fynbos	44.44	55.56	66.67	59.26	40.74
			ander	66.67				
1b	SNV + DT	7	fynbos	47.37	57.37	66.67	61.11	38.89
			ander	68.57				
1c	DT	5	fynbos	42.86	58.27	66.67	53.70	46.30
			ander	73.68				
1d	SG	4	fynbos	25.81	36.82	64.29	35.19	64.81
			ander	47.83				
2	EPO	6	fynbos	57.14	66.45	72.22	68.52	31.48
			ander	75.76				
2a	EPO + SNV	6	fynbos	59.09	68.61	71.65	70.37	29.63
			ander	78.13				
2b	EPO + SNV + DT	6	fynbos	59.09	68.61	72.22	70.37	29.63
			ander	78.13				
2c	EPO + DT	6	fynbos	57.14	66.45	72.22	68.52	31.48
			ander	75.76				
2d	EPO + SG	5	fynbos	45.83	57.92	74.60	59.26	40.74
			ander	70.00				
KS								
3a	SNV	5	fynbos	50.00	60.53	67.50	63.33	36.67
			ander	71.05				
3b	SNV + DT	5	fynbos	50.00	60.53	66.67	63.33	36.67

			ander	71.05				
Modelnommer	Voorafbehandeling	LV	Klas	Sensitiwiteit _P (%)	Spesifisiteit _P (%)	Kalibrasie- akkuraatheid (%)	Voorspellings- akkuraatheid (%)	Wanindelingskoers (%)
3c	DT	5	fynbos	55.00				
			ander	72.50	63.75	61.67	66.67	33.33
3d	SG	9	fynbos	57.14				
			ander	81.25	69.20	79.17	70.00	30.00
4	EPO	5	fynbos	60.00				
			ander	75.00	67.50	71.67	70.00	30.00
4a	EPO + SNV	6	fynbos	57.14				
			ander	81.25	69.20	74.17	70.00	30.00
4b	EPO + SNV + DT	6	fynbos	58.62				
			ander	83.87	71.25	74.17	71.67	28.33
4c	EPO + DT	6	fynbos	62.50				
			ander	80.56	71.53	72.50	73.33	26.67
4d	EPO + SG	7	fynbos	53.33				
			ander	80.00	66.67	80.83	66.67	33.00

DT (tendensverwydering); EPO (eksterne parameter-ortagonalisering); KS (Kennard-Stone); LV (latente veranderlikes); P (voorspelling); SG (Savitzky-Golay); SNV (standaard-normale veranderlike)

Tabel B.2 Die vertoning van die PLS-DA-modelle van verskillende voorafbehandelings tegnieke vir botaniese klassifikasie van die handmodel (Teflonkoppie).

Modelnommer	Voorafbehandeling	LV	Klas	Sensitiwiteit _P (%)	Spesifisiteit _P (%)	Kalibrasie- akkuraatheid (%)	Voorspellings- akkuraatheid (%)	Wanindielingskoers (%)
Duplex								
1a	SNV	9	fynbos ander	69.23 75.00	72.12	84.92	72.22	27.78
1b	SNV + DT	9	fynbos ander	69.23 71.43	70.33	87.30	70.37	29.63
1c	DT	5	fynbos ander	57.69 78.57	68.13	72.22	68.52	31.48
1d	SG	1	fynbos ander	84.62 17.86	51.24	53.38	50.00	50.00
2	EPO	5	fynbos ander	73.08 64.29	68.68	76.19	68.52	31.48
2a	EPO + SNV	9	fynbos ander	76.92 82.14	79.53	90.48	79.63	20.37
2b	EPO + SNV + DT	9	fynbos ander	76.92 82.14	79.53	90.48	79.63	20.37
2c	EPO + DT	5	fynbos ander	57.69 64.29	60.99	74.60	61.11	38.89
2d	EPO + SG	1	fynbos ander	42.31 85.71	64.01	65.87	64.81	35.19
KS								
3a	SNV	4	fynbos ander	42.31 76.47	59.39	76.67	61.67	38.33
3b	SNV + DT	4	fynbos ander	42.31 76.47	59.39	80.00	61.67	38.33
3c	DT	2	fynbos ander	42.31 73.53	57.92	67.50	60.00	40.00
3d	SG	1	fynbos	88.46	50.11	52.50	45.00	55.00

			ander	11.76				
Modelnommer	Voorafbehandeling	LV	Klas	Sensitiwiteit _P (%)	Spesifisiteit _P (%)	Kalibrasie- akkuraatheid (%)	Voorspellings- akkuraatheid (%)	Wanindelingskoers (%)
4	EPO	2	fynbos	30.77				
			ander	82.35	56.56	70.83	60.00	40.00
4a	EPO + SNV	2	fynbos	42.31				
			ander	70.59	56.45	70.83	58.33	41.67
4b	EPO + SNV + DT	3	fynbos	34.62				
			ander	73.53	54.07	70.00	56.67	43.33
4c	EPO + DT	2	fynbos	30.77				
			ander	82.35	56.56	70.83	60.00	40.00
4d	EPO + SG	1	fynbos	34.62				
			ander	67.56	51.13	69.17	53.33	46.67

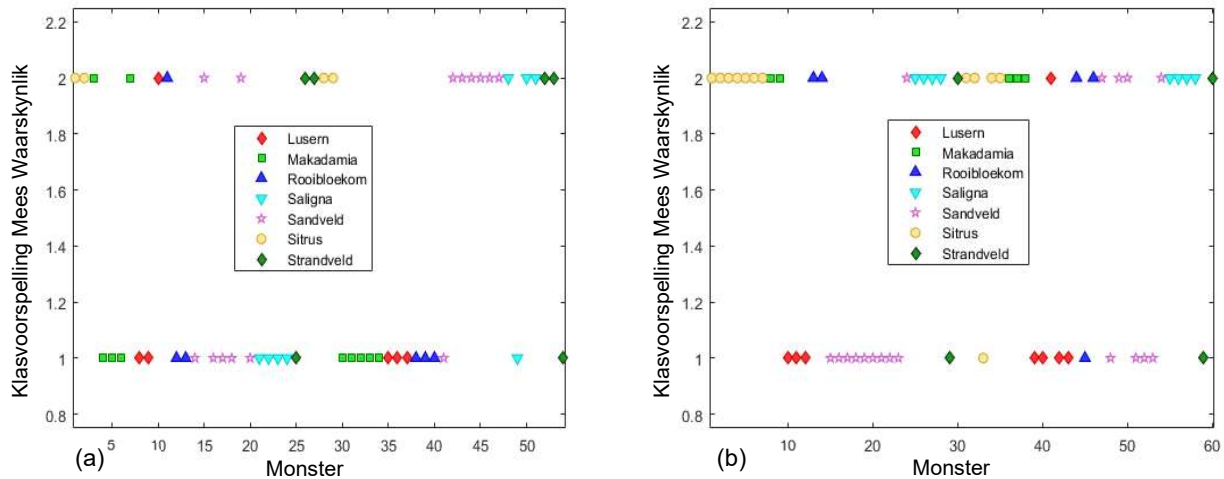
DT (tendensverwydering); EPO (eksterne parameter-ortagonalisering); KS (Kennard-Stone); LV (latente veranderlikes); P (voorspelling); SG (Savitzky-Golay); SNV (standaard-normale veranderlike)

Tabel B.3 Die vertoning van die PLS-DA-modelle van verskillende voorafbehandelings tegnieke vir botaniese klassifikasie van die handmodel (glasflessie).

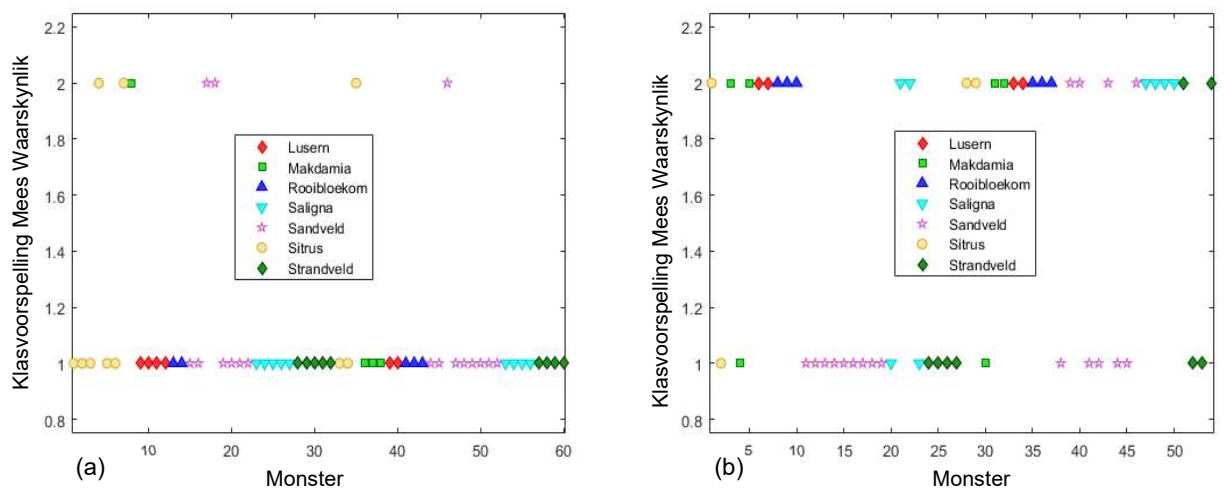
Modelnommer	Voorafbehandeling	LV	Klas	Sensitiwiteit _P (%)	Spesifisiteit _P (%)	Kalibrasie- akkuraatheid (%)	Voorspellings- akkuraatheid (%)	Wanindielingskoers (%)
Duplex								
1a	SNV	3	fynbos ander	63.33 62.50	62.92	73.02	62.96	37.04
1b	SNV + DT	3	fynbos ander	60.00 62.50	61.25	73.02	61.11	38.89
1c	DT	4	fynbos ander	73.33 58.33	65.83	66.67	66.67	33.33
1d	SG	4	fynbos ander	66.67 66.67	66.67	69.84	66.67	33.33
2	EPO	3	fynbos ander	63.33 50.00	56.67	71.43	57.41	42.59
2a	EPO + SNV	3	fynbos ander	63.33 54.17	58.75	69.83	59.26	40.74
2b	EPO + SNV + DT	3	fynbos ander	63.33 54.17	58.75	72.22	59.26	40.74
2c	EPO + DT	3	fynbos ander	63.33 50.00	56.67	71.43	57.41	42.59
2d	EPO + SG	2	fynbos ander	56.67 58.33	57.50	66.67	57.41	42.59
KS								
3a	SNV	5	fynbos ander	79.17 63.89	71.53	73.33	70.00	30.00
3b	SNV + DT	5	fynbos ander	79.17 63.89	71.53	73.33	70.00	30.00
3c	DT	6	fynbos ander	70.83 63.89	67.36	71.67	66.67	33.33
3d	SG	6	fynbos	75.00	72.22	75.83	71.67	28.33

			ander	69.44				
Modelnommer	Voorafbehandeling	LV	Klas	Sensitiwiteit _P (%)	Spesifisiteit _P (%)	Kalibrasie- akkuraatheid (%)	Voorspellings- akkuraatheid (%)	Wanindelingskoers (%)
4	EPO	8	fynbos	79.17				
			ander	75.00	77.08	79.17	76.67	23.33
4a	EPO + SNV	4	fynbos	58.33				
			ander	88.89	73.61	68.33	76.67	23.33
4b	EPO + SNV + DT	4	fynbos	58.33				
			ander	86.11	72.22	68.33	75.00	25.00
4c	EPO + DT	4	fynbos	66.67				
			ander	80.56	73.61	63.33	75.00	25.00
4d	EPO + SG	2	fynbos	62.50				
			ander	86.11	74.31	63.33	76.67	23.33

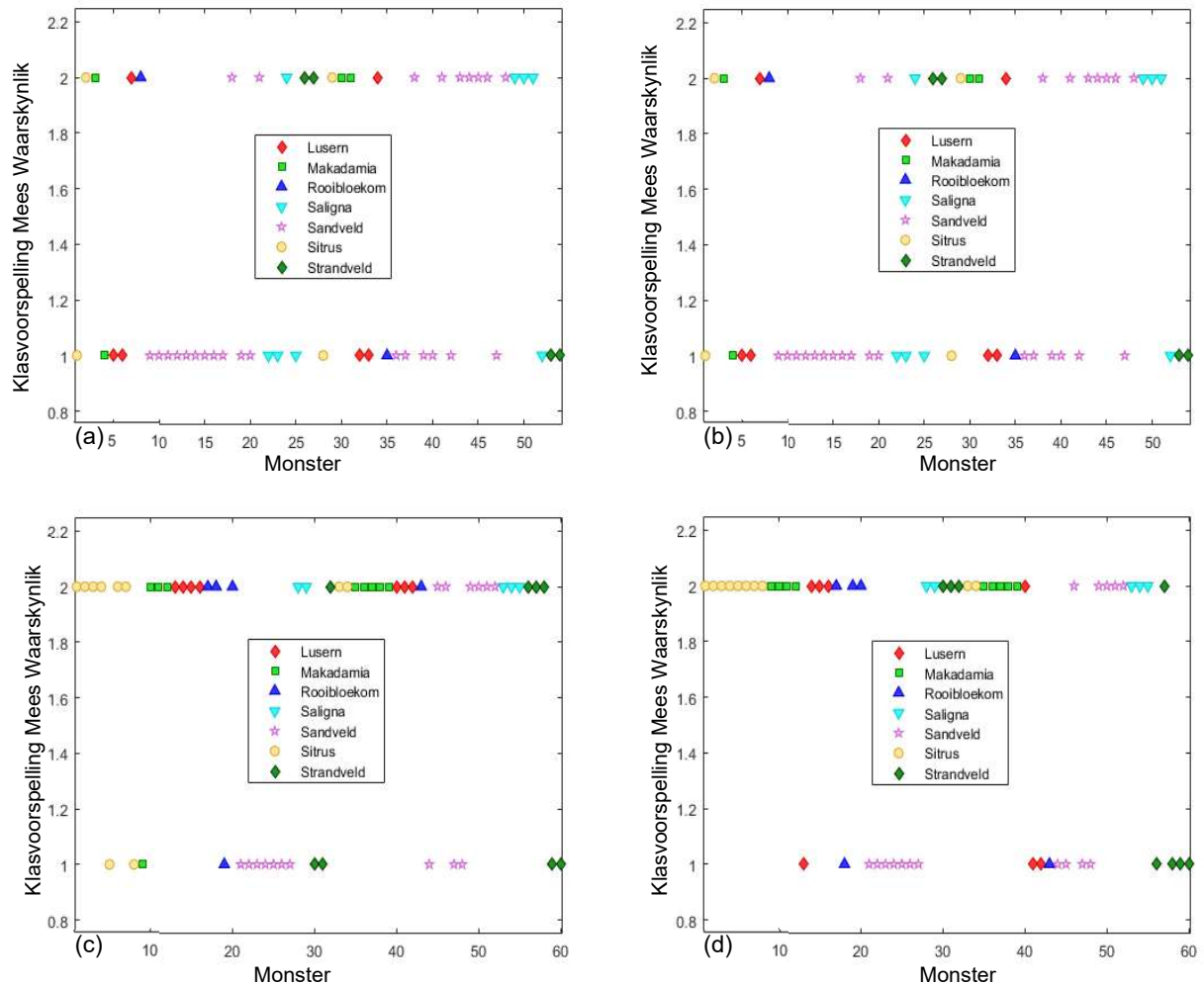
DT (tendensverwydering); EPO (eksterne parameter-ortagonalisering); KS (Kennard-Stone); LV (latente veranderlikes); P (voorspelling); SG (Savitzky-Golay); SNV (standaard-normale veranderlike)



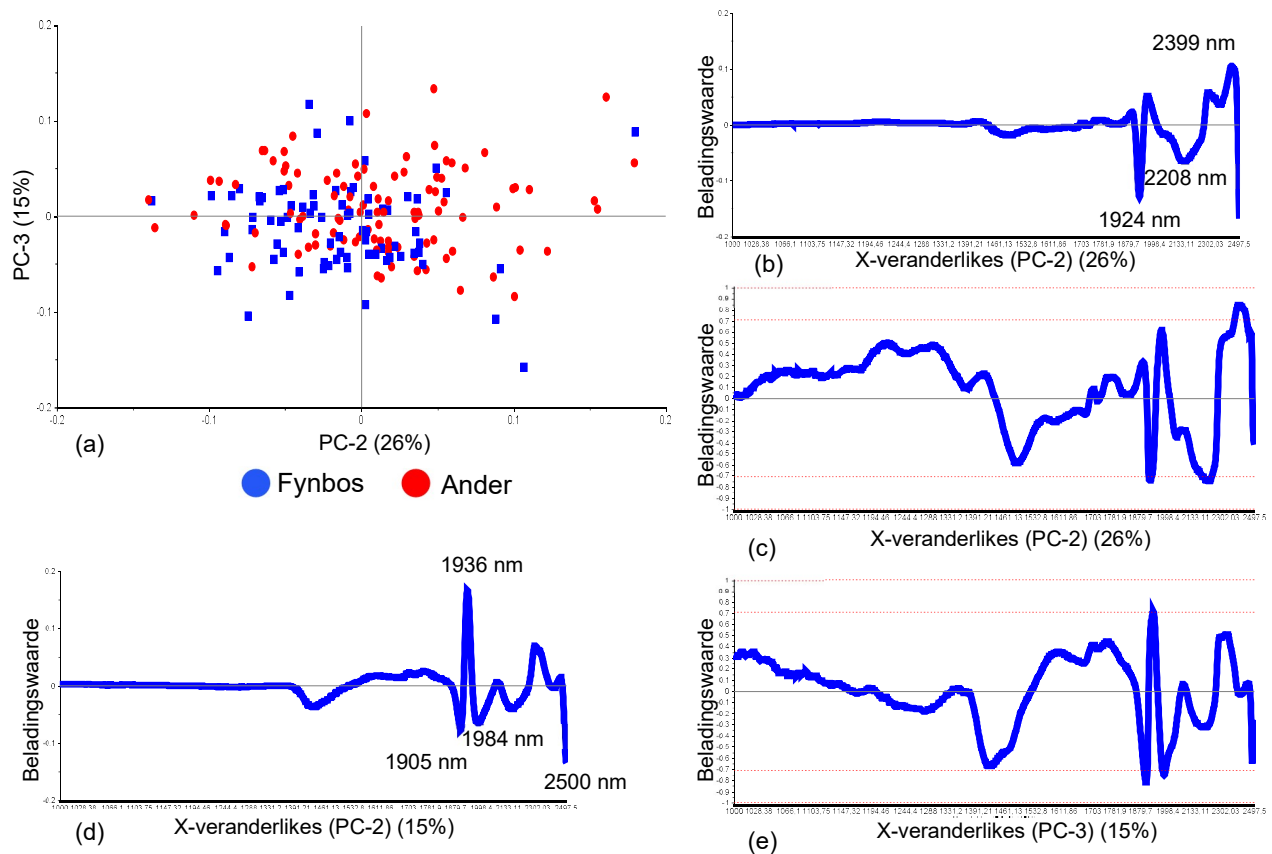
Figuur B.1 PLS-DA-modelle klasvoorspelling mees waarskynlik van die tafelinstrument vir die klassifikasie van fynbos teenoor 'ander'. Fynbos klassifikasie lyn by 1 en 'ander' klassifikasie lyn by 2. (a) Tellingstipping vir model 1d [voorafbehandel met SG (2de afgeleide, 3de veelterm, 11 gladdingspunte) met 4 LV (dataskeiding DUPLEX)], (b) tellingstipping vir model 4c [voorafbehandel met EPO (5PC) en DT met 6 LV (dataskeiding Kennard-Stone)].



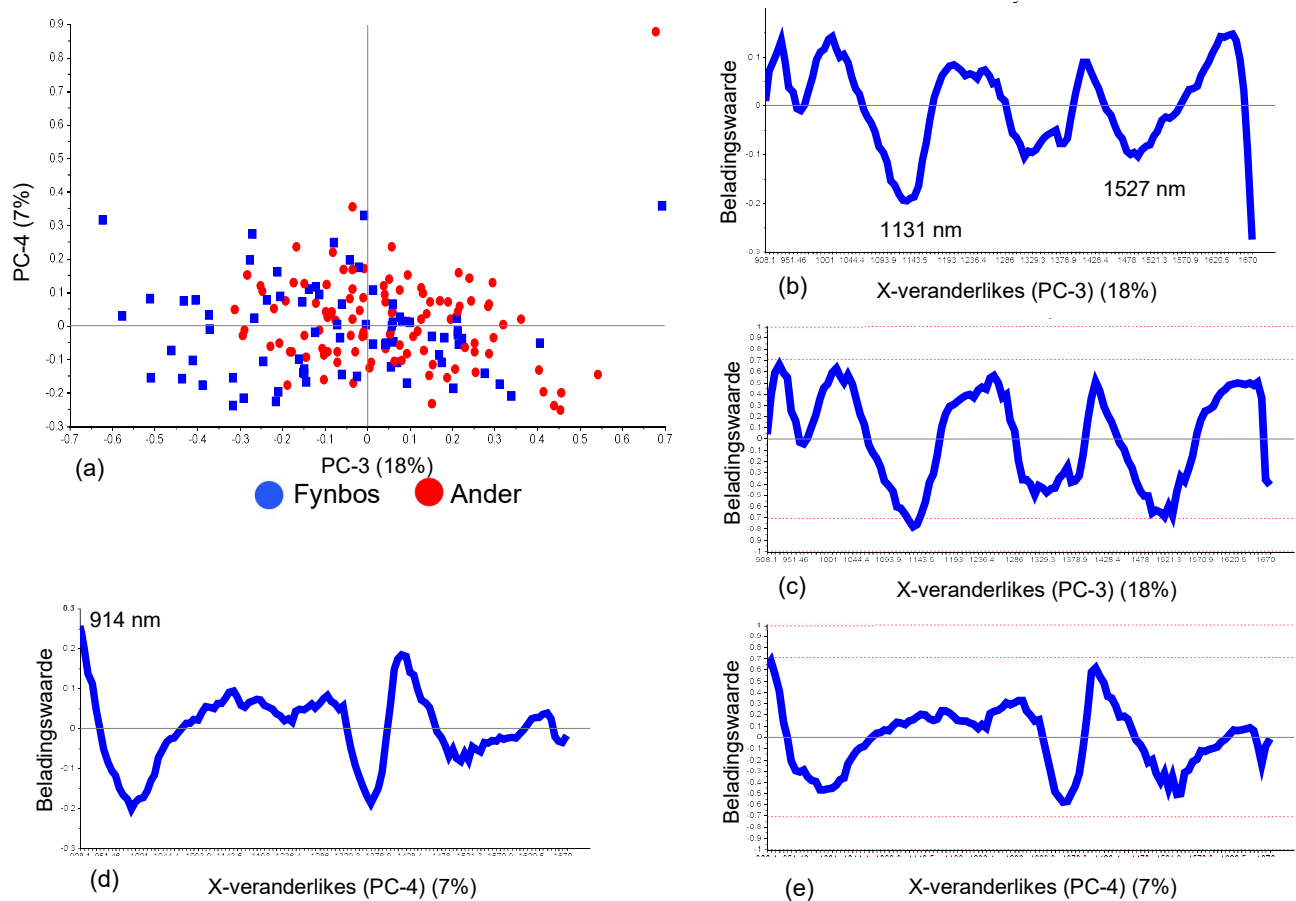
Figuur B.2 PLS-DA-modelle klasvoorspelling mees waarskynlik van die handmodel (Teflonkoppie) vir die klassifikasie van fynbos teenoor 'ander'. Fynbos klassifikasie lyn by 1 en 'ander' klassifikasie lyn by 2. (a) Tellingstipping vir model 3d [voorafbehandel met SG (2de afgeleide, 3de veelterm, 11 gladdingspunte) met 1 LV (dataskeiding Kennard-Stone)], (b) tellingstipping vir model 2a [voorafbehandel met EPO (5PC) en SNV met 9 LV (dataskeiding DUPLEX)].



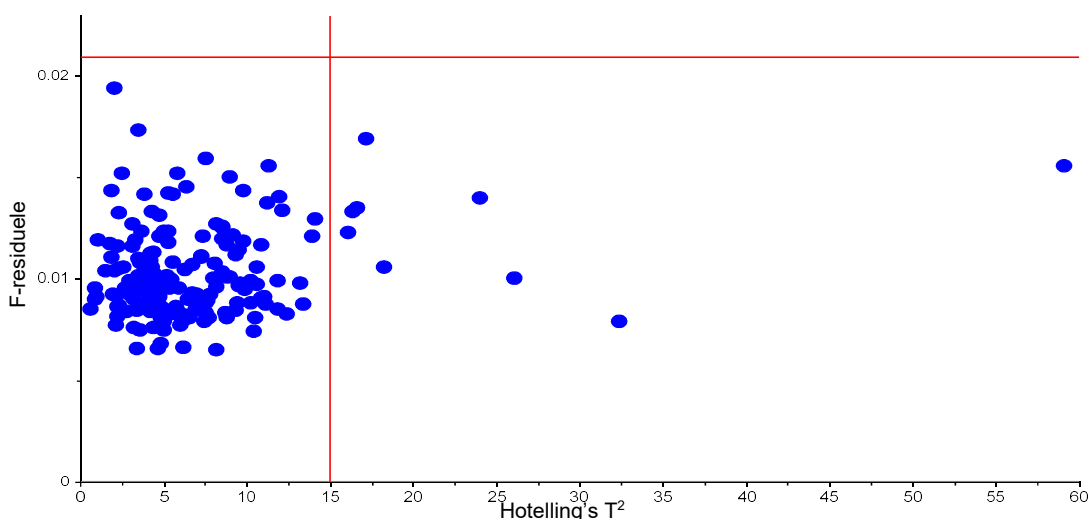
Figuur B.3 PLS-DA-modelle klasvoorspelling mees waarskynlik van die handmodel (glasflessie) vir die klassifikasie van fynbos teenoor 'ander'. Fynbos klassifikasie lyn by 1 en 'ander' klassifikasie lyn by 2. (a) Tellingstipping vir model 2 [voorafbehandel met EPO (5PC) met 3 LV (dataskeiding DUPLEX)], (b) tellingstipping vir model 2c [voorafbehandel met EPO (5PC) en DT met 3 LV (dataskeiding DUPLEX)], (c) tellingstipping vir model 4a [voorafbehandel met EPO (5PC) en SNV met 4 LV (dataskeiding Kennard-Stone)], (d) tellingstipping vir model 4d [voorafbehandel met EPO (5PC) en SG (2de afgeleide, 3de veelterm, 11 gladdingspunte) met 2 LV (dataskeiding Kennard-Stone)].



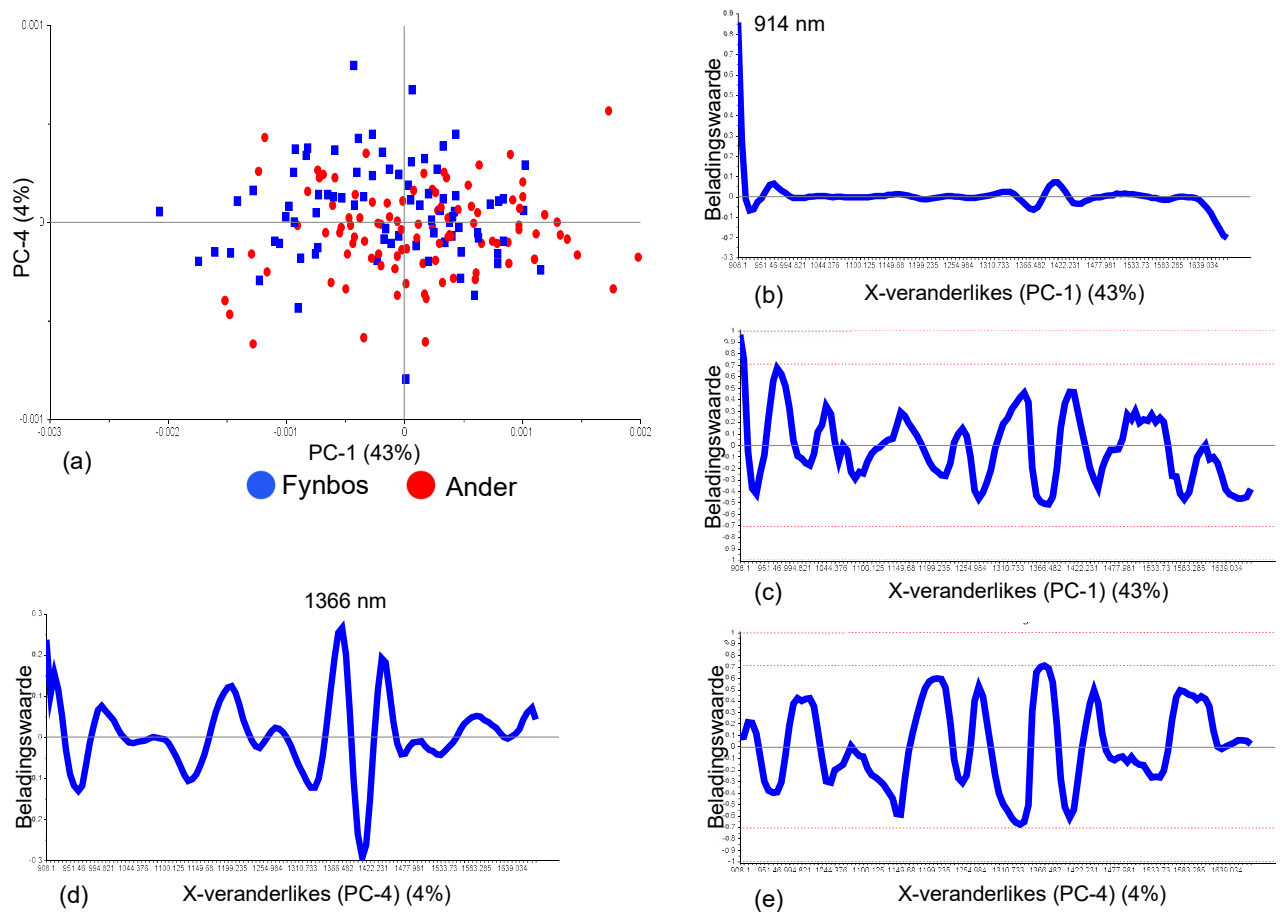
Figuur B.4 PCA van fynbosklas (blou) teenoor 'ander' klas (rooi) van die tafelinstrument met die uitskieterverwyder. Minimale skeiding is waargenem. Tellings word gegee as (a) PCA-tellingstipping van PC2 (26%) vs. PC3 (15%). (b) PCA-beladingslynstipping en (c) korrelasiebeladingstipping vir PC2 met interpreteerbare bande by 1924, 2208 en 2399 nm; en (d) PCA-beladingslynstipping en (e) korrelasiebeladingstipping vir PC3 met interpreteerbare bande by 1905, 1936, 1984 en 2500 nm.



Figuur B.5 PCA van fynbosklas (blou) teenoor 'ander' klas (rooi) van die handmodel (Teflonkoppie) met die uitskieterverwyder. Minimale skeiding is waargenem. Tellings word gegee as (a) PCA-tellingstipping van PC3 (18%) vs. PC4 (7%). (b) PCA-beladingslynstipping en (c) korrelasiebeladingstipping vir PC3 met interpreteerbare bande by 1131 en 1527 nm; en (d) PCA-beladingslynstipping en (e) korrelasiebeladingstipping vir PC4 met interpreteerbare bande by 914 nm.



Figuur B.6 Invloed stipping van twee botaniese klasse voorafbehandel met EPO en SNV en USV van die handapparaat (Teflonkoppie) (dataskeiding met DUPLEX).



Figuur B.7 PCA van fynbosklas (blou) teenoor 'ander' klas (rooi) van die handmodel (glasflessie) met die uitskieterverwyder. Minimale skeiding is waargenem. Tellings word gegee as (a) PCA-tellingstipping van PC1 (43%) vs. PC4 (4%). (b) PCA-beladingslynstipping en (c) korrelasiebeladingstipping vir PC1 met 'n interpreteerbare band by 914 nm; en (d) PCA-beladingslynstipping en (e) korrelasiebeladingstipping vir PC4 met 'n interpreteerbare band by 1366 nm.

ADDENDUM C**ADDISIONELE INLIGTING MET BETREKKING TOT HOOFSTUK 4 (GEOGRAFIESE KLASSIFIKASIE)****Tabel C.1** Die vertoning van die PLS-DA-modelle van verskillende voorafbehandelings tegnieke vir geografiese klassifikasie van die tafelinstrument.

Modelnommer	Voorafbehandeling	LV	Klas	Sensitiwiteit _P (%)	Spesifisiteit _P (%)	Kalibrasie- akkuraatheid (%)	Voorspellings- akkuraatheid (%)	Wanindelingakoers (%)
Duplex								
1a	SNV	5	Hopefield	50.00	72.35	65.00	50.00	50.00
			Stanford	60.00				
			Stellenbosch	40.00				
1b	SNV + DT	5	Hopefield	50.00	72.35	65.00	50.00	50.00
			Stanford	60.00				
			Stellenbosch	40.00				
1c	DT	4	Hopefield	50.00	72.35	65.00	50.00	50.00
			Stanford	60.00				
			Stellenbosch	40.00				
1d	SG	7	Hopefield	66.67	78.62	80.00	62.50	37.50
			Stanford	62.50				
			Stellenbosch	60.00				
2	EPO	5	Hopefield	33.33	77.27	92.50	62.50	37.50
			Stanford	75.00				
			Stellenbosch	66.67				
2a	EPO + SNV	4	Hopefield	50.00	71.11	87.50	56.25	43.75
			Stanford	60.00				
			Stellenbosch	55.56				
2b	EPO + SNV + DT	4	Hopefield	50.00	65.81	87.50	50.00	50.00
			Stanford	50.00				
			Stellenbosch	50.00				
2c	EPO + DT	4	Hopefield	50.00	77.27	95.00	62.50	37.50

			Stanford	75.00				
			Stellenbosch	60.00				
Modelnommer	Voorafbehandeling	LV	Klas	Sensitiwiteit _P (%)	Spesifisiteit _P (%)	Kalibrasie- akkuraatheid (%)	Voorspellings- akkuraatheid (%)	Wanindelingakoers (%)
			Hopefield	100.00				
2d	EPO + SG	7	Stanford	80.00	85.54	92.50	75.00	25.00
			Stellenbosch	66.67				
KS								
			Hopefield	42.86				
3a	SNV	5	Stanford	60.00	66.75	75.68	47.37	52.63
			Stellenbosch	42.86				
			Hopefield	50.00				
3b	SNV + DT	5	Stanford	60.00	70.38	75.68	52.63	47.37
			Stellenbosch	50.00				
			Hopefield	0.00				
3c	DT	2	Stanford	33.33	53.81	64.86	36.84	63.16
			Stellenbosch	41.67				
			Hopefield	50.00				
3d	SG	3	Stanford	16.67	42.28	70.27	26.32	73.68
			Stellenbosch	14.29				
			Hopefield	77.78				
4	EPO	5	Stanford	50.00	87.08	86.49	73.68	26.32
			Stellenbosch	75.00				
			Hopefield	83.33				
4a	EPO + SNV	5	Stanford	66.67	80.80	89.19	68.42	31.58
			Stellenbosch	60.00				
			Hopefield	66.67				
4b	EPO + SNV + DT	1	Stanford	0.00	64.74	64.86	47.37	52.63
			Stellenbosch	46.67				
4c	EPO + DT	5	Hopefield	77.78	87.08	86.49	73.68	26.32

			Stanford	50.00				
			Stellenbosch	75.00				
			Hopefield	50.00				
4d	EPO + SG	4	Stanford	25.00	58.18	81.08	42.11	57.89
			Stellenbosch	45.45				

DT (tendensverwydering); EPO (eksterne parameter-ortagonalisering); KS (Kennard-Stone); LV (latente veranderlikes); P (voorspelling); SG (Savitzky-Golay); SNV (standaard-normale veranderlike)

Tabel C.2 Die vertoning van die PLS-DA-modelle van verskillende voorafbehandelings tegnieke vir geografiese klassifikasie van die handmodel (Teflonkoppie).

Modelnommer	Voorafbehandeling	LV	Klas	Sensitiwiteit _P (%)	Spesifisiteit _P (%)	Kalibrasie- akkuraatheid (%)	Voorspellings- akkuraatheid (%)	Wanindelingkoers (%)
Duplex								
			Hopefield	75.00				
1a	SNV	6	Stanford	80.00	80.47	80.00	62.50	37.50
			Stellenbosch	42.86				
			Hopefield	75.00				
1b	SNV + DT	6	Stanford	80.00	80.47	80.00	62.50	37.50
			Stellenbosch	42.86				
			Hopefield	87.50				
1c	DT	6	Stanford	100.00	94.19	67.50	87.50	12.50
			Stellenbosch	80.00				
			Hopefield	75.00				
1d	SG	5	Stanford	37.50	68.52	72.50	50.00	50.00
			Stellenbosch	50.00				
			Hopefield	71.43				
2	EPO	4	Stanford	50.00	71.48	85.00	56.25	43.75
			Stellenbosch	40.00				
			Hopefield	77.78				
2a	EPO + SNV	4	Stanford	66.67	85.61	92.50	68.75	31.25

			Stellenbosch	50.00				
Modelnommer	Voorafbehandeling	LV	Klas	Sensitiwiteit _P (%)	Spesifisiteit _P (%)	Kalibrasie- akkuraatheid (%)	Voorspellings- akkuraatheid (%)	Wanindelingskoers (%)
2b	EPO + SNV + DT	4	Hopefield	77.78	85.61	95.00	68.75	31.25
			Stanford	66.67				
			Stellenbosch	50.00				
2c	EPO + DT	4	Hopefield	71.43	71.48	85.00	56.25	43.75
			Stanford	50.00				
			Stellenbosch	40.00				
2d	EPO + SG	4	Hopefield	83.33	87.04	97.50	75.00	25.00
			Stanford	66.67				
			Stellenbosch	71.43				
KS								
3a	SNV	5	Hopefield	0.00	73.25	89.19	57.89	42.11
			Stanford	100.00				
			Stellenbosch	50.00				
3b	SNV + DT	5	Hopefield	0.00	73.25	81.08	57.89	42.11
			Stanford	100.00				
			Stellenbosch	50.00				
3c	DT	2	Hopefield	0.00	40.00	54.05	42.11	57.89
			Stanford	0.00				
			Stellenbosch	50.00				
3d	SG	3	Hopefield	0.00	37.88	70.27	36.84	63.16
			Stanford	0.00				
			Stellenbosch	50.00				
4	EPO	2	Hopefield	0.00	62.96	83.78	47.37	52.63
			Stanford	100.00				
			Stellenbosch	45.45				
4a	EPO + SNV	2	Hopefield	0.00	68.45	91.89	52.63	47.37
			Stanford	100.00				

			Stellenbosch	50.00				
Modelnommer	Voorafbehandeling	LV	Klas	Sensitiwiteit _P (%)	Spesifisiteit _P (%)	Kalibrasie- akkuraatheid (%)	Voorspellings- akkuraatheid (%)	Wanindelingakoers (%)
4b	EPO + SNV + DT	2	Hopefield	0.00				
			Stanford	100.00	68.45	91.89	52.63	47.37
			Stellenbosch	50.00				
4c	EPO + DT	5	Hopefield	0.00				
			Stanford	100.00	74.44	94.59	57.89	42.11
			Stellenbosch	50.00				
4d	EPO + SG	3	Hopefield	0.00				
			Stanford	80.00	68.25	89.19	52.63	47.37
			Stellenbosch	50.00				

DT (tendensverwydering); EPO (eksterne parameter-ortagonalisering); KS (Kennard-Stone); LV (latente veranderlikes); P (voorspelling); SG (Savitzky-Golay); SNV (standaard-normale veranderlike)

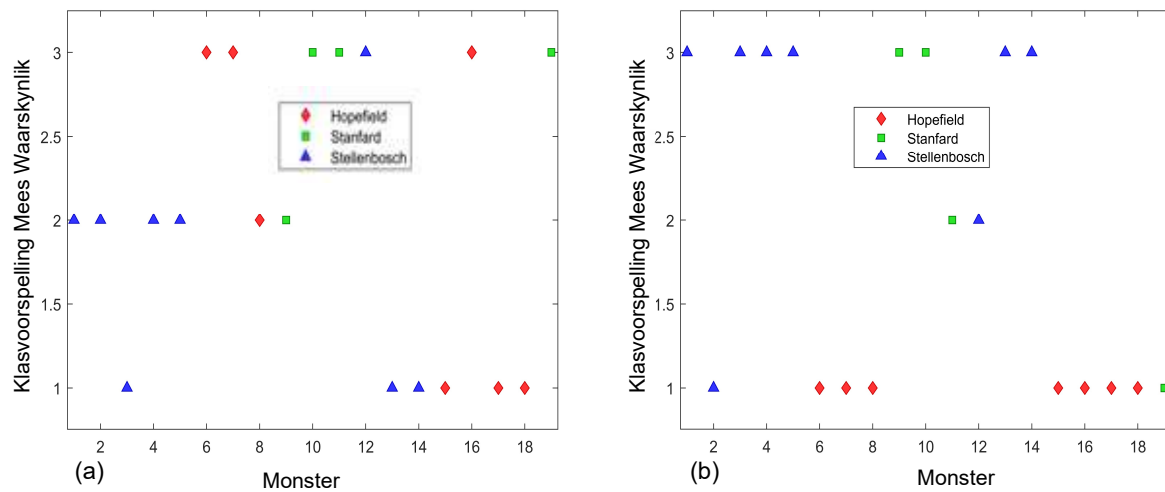
Tabel C.3 Die vertoning van die PLS-DA-modelle van verskillende voorafbehandelings tegnieke vir geografiese klassifikasie van die handmodel (glasflessie).

Modelnommer	Voorafbehandeling	LV	Klas	Sensitiwiteit _P (%)	Spesifisiteit _P (%)	Kalibrasie- akkuraatheid (%)	Voorspellings- akkuraatheid (%)	Wanindelingakoers (%)
Duplex								
1a	SNV	4	Hopefield	55.56				
			Stanford	50.00	80.56	75.00	62.50	37.50
			Stellenbosch	100.00				
1b	SNV + DT	4	Hopefield	62.50				
			Stanford	40.00	80.56	75.00	62.50	37.50
			Stellenbosch	100.00				
1c	DT	3	Hopefield	50.00				
			Stanford	28.57	65.80	62.50	43.75	56.25
			Stellenbosch	57.14				
1d	SG	4	Hopefield	42.86	62.43	70.00	43.75	56.25

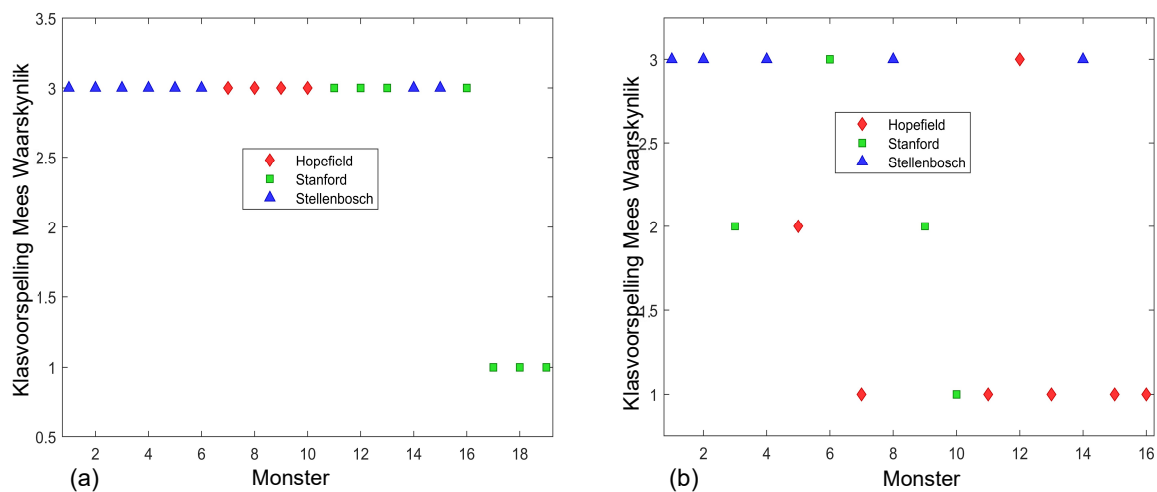
			Stanford	25.00				
			Stellenbosch	60.00				
Modelnommer	Voorafbehandeling	LV	Klas	Sensitiwiteit _P (%)	Spesifisiteit _P (%)	Kalibrasie- akkuraatheid (%)	Voorspellings- akkuraatheid (%)	Wanindelingakoers (%)
2	EPO	4	Hopefield	55.56				
			Stanford	50.00	77.95	87.50	56.25	43.75
			Stellenbosch	66.67				
2a	EPO + SNV	4	Hopefield	55.56				
			Stanford	66.67	80.56	82.50	62.50	37.50
			Stellenbosch	75.00				
2b	EPO + SNV + DT	4	Hopefield	55.56				
			Stanford	66.67	80.56	82.50	62.50	37.50
			Stellenbosch	75.00				
2c	EPO + DT	4	Hopefield	55.56				
			Stanford	50.00	77.95	87.50	56.25	43.75
			Stellenbosch	66.67				
2d	EPO + SG	4	Hopefield	50.00				
			Stanford	33.33	70.83	85.00	50.00	50.00
			Stellenbosch	66.67				
KS								
3a	SNV	4	Hopefield	71.43				
			Stanford	33.33	80.00	75.68	63.16	36.84
			Stellenbosch	66.67				
3b	SNV + DT	4	Hopefield	71.43				
			Stanford	33.33	80.00	75.68	63.16	36.84
			Stellenbosch	66.67				
3c	DT	4	Hopefield	37.50				
			Stanford	50.00	70.03	70.27	52.63	47.37
			Stellenbosch	80.00				
3d	SG	6	Hopefield	20.00	62.22	86.49	47.37	52.63

			Stanford	33.33				
			Stellenbosch	75.00				
Modelnommer	Voorafbehandeling	LV	Klas	Sensitiwiteit _P (%)	Spesifisiteit _P (%)	Kalibrasie- akkuraatheid (%)	Voorspellings- akkuraatheid (%)	Wanindelingakoers (%)
4	EPO	7	Hopefield	100.00				
			Stanford	57.14	84.43	94.59	73.68	26.32
			Stellenbosch	77.78				
4a	EPO + SNV	7	Hopefield	100.00				
			Stanford	71.43	91.85	94.59	84.21	15.79
			Stellenbosch	88.89				
4b	EPO + SNV + DT	7	Hopefield	100.00				
			Stanford	71.43	91.85	94.59	84.21	15.79
			Stellenbosch	88.89				
4c	EPO + DT	7	Hopefield	100.00				
			Stanford	57.14	84.43	94.59	73.68	26.32
			Stellenbosch	77.78				
4d	EPO + SG	4	Hopefield	40.00				
			Stanford	50.00	68.69	91.89	52.63	47.37
			Stellenbosch	62.500				

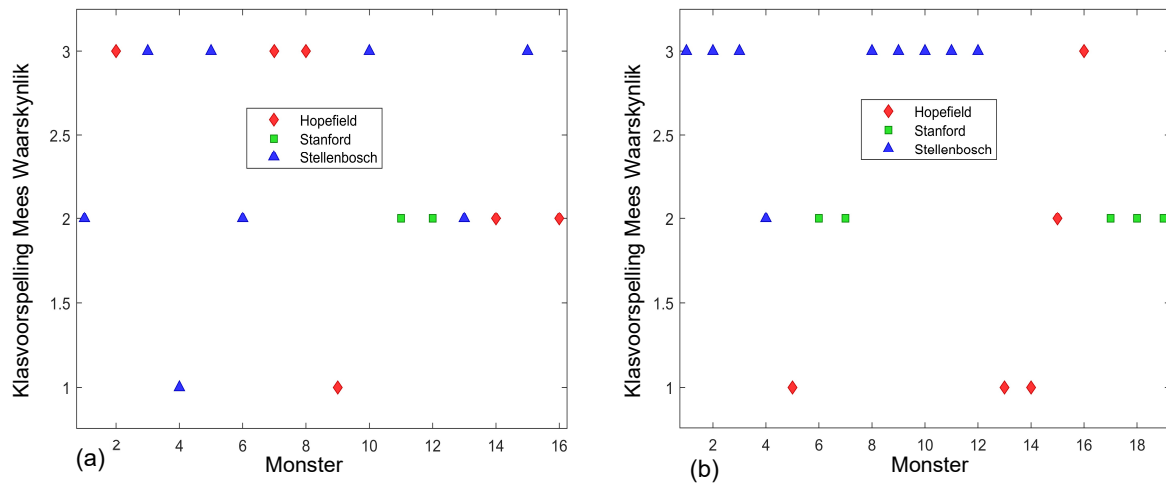
DT (tendensverwydering); EPO (eksterne parameter-ortagonalisering); KS (Kennard-Stone); LV (latente veranderlikes); P (voorspelling); SG (Savitzky-Golay); SNV (standaard-normale veranderlike)



Figuur C.1 PLS-DA-modelle klasvoorspelling mees waarskynlik van die tafelinstrument vir die klassifikasie van Hopefield teenoor Stanford teenoor Stellenbosch. Hopefield klassifikasie lyn by 1, Stanford klassifikasie lyn by 2 en Stellenbosch klassifikasie lyn by 3. (a) Tellingstipping vir model 3d [voorafbehandel met SG (2de afgeleide, 3de veelterm, 11 gladdingspunte) met 3 LV (dataskeiding Kennard-Stone)], (b) tellingstipping vir model 4 [voorafbehandel met EPO (5PC) met 5 LV (dataskeiding Kennard-Stone)].



Figuur C.2 PLS-DA-modelle klasvoorspelling mees waarskynlik van die handmodel (Teflonkoppie) vir die klassifikasie van Hopefield teenoor Stanford teenoor Stellenbosch. Hopefield klassifikasie lyn by 1, Stanford klassifikasie lyn by 2 en Stellenbosch klassifikasie lyn by 3. (a) Tellingstipping vir model 3c [voorafbehandel met DT] met 2 LV (dataskeiding Kennard-Stone)], (b) tellingstipping vir model 2d [voorafbehandel met EPO (5PC) en SG (2de afgeleide, 3de veelterm, 11 gladdingspunte) met 4 LV (dataskeiding DUPLEX)].



Figuur C.3 PLS-DA-modelle klasvoorspelling mees waarskynlik van die handmodel (glasflessie) vir die klassifikasie van Hopefield teenoor Stanford teenoor Stellenbosch. Hopefield klassifikasie lyn by 1, Stanford klassifikasie lyn by 2 en Stellenbosch klassifikasie lyn by 3. (a) Tellingstipping vir model 1c [voorafbehandel met DT] met 2 LV (dataskeiding DUPLEX)], (b) tellingstipping vir model 4a [voorafbehandel met EPO (5PC) en SNV met 7 LV (dataskeiding Kennard-Stone)].